

L'Université de Montréal

Étude des procédés réels de réduction induits par le bombardement en LSIMS  
pour une série de colorants.

par  
Martine Allard

Département de Chimie  
Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Philosophiæ Doctor ( Ph. D. )  
en chimie

Avril, 1999  
©Martine Allard, 1999  
Université de Montréal  
Faculté des études supérieures



QD

3

U37f

1999

v.024

L'Université de Montréal

Étude des procédés réels de réduction induits par le bombardement  
pour une série de colorants

par

Martine Allard

Département de Chimie  
Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Philosophiae Doctor (Ph.D.)  
en chimie

Avril 1999

Martine Allard 1999  
Université de Montréal  
Faculté des études supérieures



Cette thèse intitulée :

Étude des procédés réels de réduction induits par le bombardement en LSIMS  
pour une série de colorants.

Présentée par:

Martine Allard

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

Prof. Karen Waldron	président rapporteur
Prof. Michel J. Bertrand	directeur de recherche
Prof. André L. Beauchamp	membre du jury
Prof. Hélène Perreault	examineur externe

## **SOMMAIRE**

Les conditions de bombardement utilisées dans les techniques de désorption en spectrométrie de masse sont propices à l'initiation d'un ensemble de réactions, tels les procédés de réduction, qui affectent certaines classes de composés organiques. La réduction de l'ion parent se manifeste par la déformation du patron isotopique d'une substance donnée due à l'addition d'un ou plusieurs hydrogènes.

Il est généralement reconnu que ceci découle d'un dépôt d'énergie par les projectiles au sein de la matrice, mais il reste que cet état de fait soulève quelques questions fondamentales relatives au mécanisme sous-jacent. Tout d'abord, la littérature sur le sujet reste encore perplexe quant à l'identité des espèces réactives qui sont initiatrices de ces procédés; les études suggèrent tour à tour l'implication des électrons, des radicaux, d'espèces excitées ou même de radiations hautement énergétiques comme protagonistes. Il existe aussi une controverse quant à l'endroit où se produisent ces réactions, soit en phase gazeuse ou en phase condensée. À la lumière de ces discussions, une question se pose; est-ce que la matrice joue effectivement un rôle dans ces procédés, et si oui, le fait-elle de manière directe ou indirecte? De plus, quel est le mécanisme sous-jacent à la formation des espèces réduites en FAB/LSIMS?

L'élucidation du mécanisme menant à la réduction ne peut être effectuée que si l'on possède un outil capable de quantifier l'impact des divers paramètres expérimentaux sur les procédés en cause. Pour ce faire, un programme de déconvolution est nécessaire. Un tel programme, SIMBROC, a été développé dans le cadre d'un projet antérieur en utilisant comme modèle la classe des peptides. Il est capable d'isoler les procédés rédox réels et de produire des résultats non seulement mathématiquement corrects mais aussi physiquement significatifs.

L'objectif de cette thèse est de premièrement vérifier la validité du programme pour l'étude des teintures, des substances qui se réduisent de

manière significative en FAB/LSIMS, pour s'assurer de l'applicabilité de SIMBROC dans ces conditions extrêmes. Toutefois c'est la proposition d'un mécanisme plausible pour expliquer la formation des espèces  $(M+H)^+$  et  $(M+2H)^+$  sous irradiation en FAB/LSIMS qui est le dessein ultime de la présente thèse.

La subtilité des comportements respectifs des deux procédés réels révélés par SIMBROC démontre la puissance de l'outil informatique, particulièrement pour dévoiler le détail mécanistique autrement invisible. L'isolement de ces deux procédés réels de réduction révèle que ceux-ci sont des procédés consécutifs, qui se réalisent vraisemblablement en phase condensée. Le rôle de la matrice est semble-t-il intime puisque la nature de celle-ci inhibe ou induit fortement la présence des deux espèces réduites.

Un autre fait intéressant ressort de l'étude des procédés réels de réduction; il semble que la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  prenne place dans les quelques couches qui composent la surface alors que  $(M+2H)^+$  prend naissance plus profondément dans la solution. Cet état explique la sensibilité respective de ces deux procédés à divers paramètres expérimentaux; par exemple, la variation de la quantité en surface de l'analyte par l'usage d'une matrice ayant une tension de surface moindre inhibe la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  mais affecte peu la formation de l'espèce  $(M+2H)^+$ . Ceci semble indiquer que la formation de  $(M+H)^+$  nécessite l'intervention des espèces réactives produites en surface par le bombardement

Nous avons proposé un schéma mécanistique en développant un modèle cinétique, qui implique initialement un échange électronique vers la formation de l'espèce  $(M+H)^+$ , suivi d'une réaction radicalaire avec  $H^{\cdot}$  pour la formation de  $(M+2H)^+$ . Cette hypothèse a été étayée entre autres en obtenant les affinités électroniques de nos analytes par calcul semi-empirique; ces

résultats exposent la relation proportionnelle entre le degré de réduction et l'affinité électronique du cation précurseur  $M^+$  pour l'espèce  $(M+H)^+$ .

Il s'avère que notre schéma mécanistique permet de vérifier le comportement des procédés réels de réduction en fonction de la variation des divers paramètres expérimentaux.

Finalement, un rapprochement s'effectue entre ce mécanisme et ceux postulés pour d'autres réactions induites en FAB/LSIMS, telles la déhalogénéation, et même pour des réactions observées en radiolyse, ce qui constitue un appui au mécanisme proposé ici.

# Tables des matières

Sommaire	I
Tables des matières	V
Liste des Figures	VIII
Liste des Tableaux	XII
Liste des abréviations	XV
<b>CHAPITRE 1</b>	
INTRODUCTION	1
<b>CHAPITRE 2</b>	
PRINCIPES DE BASE ET RÉACTIONS OBSERVÉES EN LSIMS/FAB	15
2.1 PRINCIPE DE LA TECHNIQUE D'IONISATION LSIMS/FAB	18
2.2 MÉCANISMES DE DÉSORPTION-IONISATION; MODÈLES PROPOSÉS	20
2.2.1 MODÈLE EN PHASE CONDENSÉE	21
2.2.2 MODÈLE EN PHASE GAZEUSE	24
2.3 PARAMÈTRES PHYSIQUES ET CHIMIQUES EN LSIMS/FAB	26
2.3.1 PARAMÈTRES PHYSIQUES	26
2.3.2 PARAMÈTRES CHIMIQUES	27
2.4 SURVOL DES RÉACTIONS INDUITES PAR LE BOMBARDEMENT EN LSIMS/FAB	32
2.4.1 RÉACTION ACIDE-BASE	33
2.4.2 RÉACTION DE SUBSTITUTION ET D'ADDITION	35
2.4.3 RÉACTION D'OXYDATION-RÉDUCTION	37
2.5 PARAMÈTRES EXPÉRIMENTAUX AFFECTANT LA RÉDUCTION APPARENTE EN LSIMS/FAB.	39
2.5.1 PARAMÈTRES PHYSIQUE	41
2.5.2 PARAMÈTRES CHIMIQUES	44
2.6 MÉTHODES D'ÉVALUATIONS DES PROCÉDÉS RÉDOX APPARENTS	49
2.6.1 SIMBROC: SON EMPLOI ET SA NÉCESSITÉ	50

2.7 CHOIX DU SYSTÈME À L'ÉTUDE	54
<b>CHAPITRE 3</b>	
<b>PROCÉDURE EXPÉRIMENTALE</b>	<b>56</b>
3.1 INSTRUMENTATION	57
3.2 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS	59
3.3 OBTENTION ET TRAITEMENT DES DONNÉES	66
3.3.1 SIMBROC ET MODÈLE MATHÉMATIQUE	66
3.3.2 CALCULS SEMI-EMPIRIQUES	67
<b>CHAPITRE 4</b>	
<b>EFFETS DES PARAMÈTRES EXPÉRIMENTAUX SUR LES PROCÉDÉS RÉDOX DÉCONVOLUÉS</b>	<b>68</b>
4.1 PARAMÈTRES CHIMIQUES	70
4.1.1 RÔLE DE LA MATRICE	70
a) système thioglycérol-bleu de méthylène	70
b) nature de la matrice	77
4.1.2 CONCENTRATION	83
4.1.3 PRÉSENCE D'ADDITIFS	94
4.2 PARAMÈTRES PHYSIQUES	104
4.2.1 TEMPS D'IRRADIATION	104
4.2.2 DENSITÉ DU FAISCEAU	107
4.2.3 ÉNERGIE DU FAISCEAU	115
<b>CHAPITRE 5</b>	
<b>VERS L'ÉBAUCHE D'UN MÉCANISME DE RÉDUCTION</b>	<b>119</b>
5.1 ÉBAUCHE DU MÉCANISME : MODÈLE CINÉTIQUE	123
5.1.1 FORMATION DE L'ESPÈCE $(M+H)^{+\bullet}$	123
5.1.2 EFFET DE LA STRUCTURE DE L'ANALYTE SUR LES PROCÉDÉS DE RÉDUCTION	131
5.1.3 FORMATION DE L'ESPÈCE $(M+2H)^{+\bullet}$	132
5.2 VALIDATION DU MÉCANISME : LE SYSTÈME BLEU DE MÉTHYLÈNE-THIOGLYCÉROL	135
5.2.1 VALIDATION DU MÉCANISME: APPROCHE EXPÉRIMENTALE	137

5.2.2 VALIDATION DU MÉCANISME : APPROCHE INTUITIVE	152
<b>5.3 LE MÉCANISME PROPOSÉ DANS LE CONTEXTE DE LA LITTÉRATURE ACTUELLE</b>	<b>152</b>
<b>5.4 PARALLÈLES ENTRE LSIMS/FAB ET LA RADIOLYSE</b>	<b>153</b>
A) INTRODUCTION À LA CHIMIE DES RADIATIONS	154
B) RADIOLYSE DU BLEU DE MÉTHYLÈNE	155
<b>5.5 HYPOTHÈSE MÉCANISTIQUE EN BREF</b>	<b>161</b>
<b>5.6 CORROBORATION DU MÉCANISME À L'AIDE DES RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX</b>	<b>163</b>
<b>CHAPITRE 6</b>	
<hr/>	
<b>CONCLUSION</b>	<b>165</b>
<b>ANNEXE</b>	
<hr/>	
<b>DESCRIPTION DU MODÈLE HOMOGENÈ ET DU MODÈLE ENRICHISSEMENT DE SURFACE</b>	<b>171</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>181</b>
<hr/>	
<b>REMERCIEMENTS</b>	<b>200</b>

## Liste des Figures

<b>Figure 2.1:</b> Représentation schématique d'une source d'ionisation LSIMS/FAB	19
<b>Figure 2.2:</b> Spectre d'une solution glycérolique de rhodamine montrant un degré de réduction apparent extensif (0,005M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A)	40
<b>Figure 3.1:</b> Schéma du spectromètre de masse Autospec-Q	58
<b>Figure 3.2:</b> Spectre typique d'une solution glycérolique de rhodamine 0,1M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A	63
<b>Figure 3.3:</b> Spectre typique d'une solution glycérolique de cristal violet 0,1M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A	64
<b>Figure 3.4:</b> Spectre typique d'une solution glycérolique de bleu de méthylène 0,1M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A	65
<b>Figure 4.1:</b> Spectres de masse en fonction du temps de réaction pour une solution 0,025M THIO-MB a) t=30sec b) t=14 minutes c) t=23 minutes (14 keV, 1,5 $\mu$ A)	73
<b>Figure 4.2:</b> Effet de la concentration sur a) Red1 et b) Red2 pour des solutions glycéroliques de bleu de méthylène (14 keV, 1,5 $\mu$ A)	85

**Figure 4.3:**

Effet de la concentration sur a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour des solutions glycéroliques de rhodamine (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 86

**Figure 4.4:**

Effet de la concentration sur a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour des solutions glycéroliques de cristal violet (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 87

**Figure 4.5:**

Ratio matrice-analyte pour des solutions glycéroliques de rhodamine (22 kV, 1,5  $\mu$ A) 89

**Figure 4.6:**

Comparaison du modèle homogène (o) et d'enrichissement de surface ( $\Delta$ ) avec les procédés réels( $\blacklozenge$ ) a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour MB/GLY (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 91

**Figure 4.7:**

Comparaison du modèle homogène (o) et d'enrichissement de surface ( $\Delta$ ) avec les procédés réels( $\blacklozenge$ ) a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour VL/GLY (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 92

**Figure 4.8:**

Comparaison du modèle homogène (o) et d'enrichissement de surface ( $\Delta$ ) avec les procédés réels( $\blacklozenge$ ) a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour RH/GLY (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 93

**Figure 4.9:**

Effet de densité du faisceau sur a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour une solution glycérolique 0,1M de bleu de méthylène. (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 108

**Figure 4.10:**

Effet de la densité du faisceau sur a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour une solution glycérolique 0,025M de cristal violet (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 109

**Figure 4.11:**

Effet de la densité du faisceau sur a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour une solution glycérolique 0,1M de rhodamine (14 keV, 1,5  $\mu$ A) 110

**Figure 4.12:**

Effet de la densité du faisceau sur la courbe des concentrations de a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour des solutions de RH/GLY de différentes concentrations (14 keV, 3,0 et 5,0  $\mu$ A) 113

**Figure 4.13:**

Effet de la densité du faisceau sur les procédés réels a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour des solutions de bleu de méthylène dans le NBA (14 keV, 0,1M) 115

**Figure 4.14:**

Effet de l'énergie des projectiles sur le profil des valeurs de a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour des solutions MB/GLY de différentes concentrations (3,0  $\mu$ A, 14 et 5 keV) 117

**Figure 5.1:**

Corrélation du procédé de réduction  $Red_1$  avec les affinités électroniques calculées (0,1M, 1,5  $\mu$ A, 14 keV) 128

**Figure 5.2:**

Corrélation de  $\ln[Red_1/Red_0]$  avec les potentiels  $E^{\circ}_{1/2}$  pour nos trois analytes (0,05M GLY, 14 keV, 1,5  $\mu$ A) 130

**Figure 5.3:**

Variation des procédés apparents  $Red_1$  (◆) et  $Red_2$  (△) de réduction en fonction du temps d'irradiation (MB, THIO, 0,005M, 1,5  $\mu$ A, 14 keV) 141

**Figure 5.4:**

Variation des procédés réels  $Red_1$  (◆) et  $Red_2$  (△) de réduction en fonction du temps d'irradiation (MB, THIO, 0,005M, 1,5  $\mu$ A, 14 keV) 142

**Figure 5.5:**

Profil cinétique a) apparent et b) réel d'une solution MB-THIO 0,1M. (1,5  $\mu$ A, 14 keV) 144

**Figure I.1:**

a) Représentation schématique d'une distribution homogène de l'analyte (•) parmi la matrice (°) et b) courbe de concentration théorique pour le modèle homogène. 175

**Figure I.2:**

Modèle d'enrichissement de surface pour a) une distribution monocouche et b) une distribution multicouche (analyte • matrice °) 177

**Figure I.3:**

Variation du ratio matrice-analyte (R) pour une distribution de a)  $n_{\min}$  b)  $n_{\min} + 10000$  et c)  $n_{\min} + 50000$  couches 179

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.1:</b> Cations des pigments organiques utilisés dans la présente étude	8
<b>Tableau 1.2:</b> Système illustrant les structures prenant part à la capture électronique $M^+ \rightarrow M^\cdot$	10
<b>Tableau 3.1:</b> Structures des composés utilisés comme matrice	60
<b>Tableau 4.1:</b> Abondances relatives des pics de la région de l'ion moléculaire pour le système MB-THIO	72
<b>Tableau 4.2:</b> Analyse en temps réel des procédés de réduction obtenus par SIMBROC (MB-THIO, 0,025M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A)	75
<b>Tableau 4.3:</b> Effet sur les procédés réels de réduction d'un ajout de thioglycérol à une matrice de glycérol (0,005M, MB, 14 keV, 1,5 $\mu$ A) t= 1 minute	76
<b>Tableau 4.4:</b> Procédés a) Red <sub>1</sub> et b) Red <sub>2</sub> obtenus pour le bleu de méthylène, le cristal violet et la rhodamine dans différentes matrices (0,025M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A)	81
<b>Tableau 4.5:</b> Procédés a) Red <sub>1</sub> et b) Red <sub>2</sub> obtenus pour le bleu de méthylène, le cristal violet et la rhodamine dans différentes matrices (0,05M, 14 keV, 1,5 $\mu$ A)	82

**Tableau 4.6:**

Suppression des procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> par l'ajout de FeCl<sub>3</sub> à une solution 0,005M a)MB-GLY b) RH-GLY (14 keV, 1,5 μA) 95

**Tableau 4.7 :**

Suppression des procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> par l'ajout de PB à une solution 0,005M MB-GLY (14 keV, 1,5 μA) 97

**Tableau 4.8:**

Suppression des procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> par l'ajout de CSA à des solutions glycéroliques 0,005M de MB, VL et RH (14 keV, 1,5 μA) 99

**Tableau 4.9:**

Effet de l'addition de dodécylsulfate de lithium (LDS, 0,01M) sur les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> des solutions glycéroliques 0,005M de VL et RH (14 keV, 1,5 μA) 101

**Tableau 4.10 :**

Procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> de MB, VL et RH pour des solutions 0,1M dans le glycérol et l'hexanetriol (14 keV, 1,5 μA) 103

**Tableau 4.11:**

Variation des procédés de réduction avec le temps d'une solution glycérolique 0,005M de bleu de méthylène (14 keV, 3 μA) 105

**Tableau 4.12:**

Équations du premier et du second degré pour la corrélation entre la densité du faisceau et les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> des trois analytes (0,1M, glycérol, 14 keV, 1,5 μA) 111

**Tableau 5.1:**

Corrélation des affinités électroniques expérimentales<sup>123</sup> et des énergies des LUMO calculées pour une série d'anthracènes substituées 127

**Tableau 5.2:**

Affinités électroniques calculées avec l'équation [9] à partir des énergies des LUMO obtenues pour les précurseurs M<sup>+</sup> 128

**Tableau 5.3:**

Corrélation entre les caractéristiques structurales des analytes et Red<sub>1</sub> (Gly, 0,025M, 1,5 μA, 14 keV) 131

**Tableau 5.4:**

Évaluation de la constante de vitesse, k', pour différents ordres partiels de réaction α, et pour une série de solutions MB-THIO de différentes concentrations (1,5 μA, 14keV) 148

**Tableau 5.5:**

Estimation de la constante de vitesse apparente pour  $V = k'[\text{MBH}]^{1/2}$ , où l'ordre  $\alpha = 1/2$  149

**Tableau 5.6:**

Procédés réels de réduction pour MB, VL, et RH dans le triméthylolpropane (0,005M, 14 keV, 1,5 μA) 151

**Tableau 5.7:**

Degré de réduction Red<sub>1</sub> pour les trois analytes dans le glycérol (0,005M et 0,1M, 1,5 μA, 14 keV) 160

**Tableau 5.8:**

Degré de réduction Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> pour les trois analytes dans le NBA (0,1M, 1,5 μA, 14 keV) 161

## Liste des abréviations

CI	Ionisation chimique
CSA	Acide camphorsulfonique
VL	Cristal Violet
DI	Désorption-ionisation
EI	Ionisation par capture électronique
$E^{\circ}_{1/2}$	Potentiel standard de réduction électrochimique
FAB	Fast Atom Bombardment (bombardement par atome rapide)
GLY	Glycérol
HEDS	Disulfure de dihydroxyéthyle
HEX	1,2,6-Hexanetriol
HPEA	2-Hydroxyéthylphénol
LDS	Dodécylsulfate de lithium
LSIMS	Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry (spectrométrie de masse par désorption d'ion secondaire)
LUMO	Orbitale moléculaire inoccupée de basse énergie
m/z	Ratio masse sur charge
MB	Bleu de méthylène
NBA	Alcool métanitrobenzylique
PB	P-benzoquinone
Red <sub>1</sub>	Premier procédé de réduction
Red <sub>1</sub> <sup>app</sup>	Premier procédé de réduction apparent
Red <sub>2</sub>	Deuxième procédé de réduction
Red <sub>2</sub> <sup>app</sup>	Deuxième procédé de réduction apparent
RH	Rhodamine
SIMBROC	Simulated Background and Reduction-Oxydation Calculations
THIO	Thioglycérol
TRIM	Triméthylolpropane
u.m.a	Unité de masse atomique

***À Gilles, Nicole et Christian***

***Au milieu de l'hiver  
j'ai trouvé en moi  
un invincible été***

***Camus***

***Rien ne vaut la peine d'être trouvé  
que ce qui n'a jamais existé encore.***

***Teilhard de Chardin***

# **CHAPITRE 1**

## **INTRODUCTION**

La curiosité de l'Homme a toujours poussé celui-ci à sonder les mystères du monde qui l'entoure. Cette curiosité fut à la source de l'établissement d'une méthode dite scientifique, qui utilise l'observation de phénomènes pour pouvoir éventuellement formuler des hypothèses. La rigueur de cette méthode réside dans le fait que l'on juge constamment les hypothèses en les soumettant à de nouveaux résultats expérimentaux. Quant à la beauté de cette approche, c'est qu'elle permet d'obtenir des connaissances objectives et vérifiables, et par extrapolation, permet aussi de pouvoir prévoir le comportement de nouveaux systèmes.

Cette approche méthodique vers la compréhension de phénomènes naturels nécessite souvent l'emploi d'appareils spécialisés, surtout dans le domaine des sciences naturelles, telles la physique, la biologie et bien sûr la chimie. Ces appareils sont donc des sondes qui permettent l'examen de caractéristiques spécifiques d'un système sous observation.

En chimie analytique, on recherche les techniques instrumentales qui nous permettent à la fois l'identification de substances inconnues, la quantification et l'élucidation des caractéristiques structurales et chimiques des molécules. Le spectromètre de masse est un de ces appareils. Il requiert une quantité minimale d'échantillon et de plus, est assez sensible pour détecter de très faibles concentrations, de l'ordre des parties par trillion dans certains cas. Il trouve son application autant pour les biomolécules, (protéines, acides nucléiques, stéroïdes)<sup>1</sup> que pour les substances réglementées (diverses drogues, polluants environnementaux)<sup>2</sup>. La spectrométrie de masse s'avère depuis 1945, une méthode analytique intéressante pour les composés inorganiques.

Le principe de fonctionnement de l'appareil est assez simple, et quel que soit le type de spectromètre de masse utilisé, l'analyse est caractérisée par

trois principes communs à tous les appareils: 1) l'ionisation, 2) le tri en fonction de la masse, 3) la détection.

L'échantillon liquide, solide ou gazeux est introduit, selon le mode d'ionisation préconisé, dans une chambre sous vide ou à pression atmosphérique. Une fois ionisés, les ions en phase gazeuse seront ensuite triés suivant leur rapport masse-sur-charge ( $m/z$ ) et puis finalement, détectés. Le résultat, un spectre de masse, est en fait un graphe qui donne l'abondance des divers ions en fonction de leur rapport  $m/z$ . L'intensité du signal ainsi que l'identité des ions permet l'identification d'un composé. Par exemple, pour une substance pure, on obtiendra non seulement l'ion moléculaire ayant un  $m/z$  correspondant à la masse du composé, mais aussi des ions fragments et des ions isotopiques. Ce patron est caractéristique à chaque substance et est en fait l' "empreinte digitale" de celle-ci.

Le premier mode d'ionisation utilisé en spectrométrie de masse, l'ionisation par impact électronique, nécessitait un échantillon sous sa forme gazeuse avant son ionisation. Ceci posait un problème pour les composés peu volatils ou thermolabiles. C'est l'avènement des techniques d'ionisation par désorption, dite douces, qui lèvera cette limitation<sup>3-7</sup>. On entend par désorption le procédé par lequel un échantillon est à la fois désorbé d'une surface et ionisé. Quoique le mécanisme sous-jacent de la désorption soit encore mal connu, ces techniques ont rapidement trouvé des applications dans l'industrie<sup>8</sup> mais elles sont devenues surtout essentielles dans le domaine des sciences biologiques.

La désorption s'effectue par le bombardement de la surface d'une solution, et la nature du projectile caractérise le type d'ionisation par désorption. La terminologie est anglophone et on désigne sous le terme de *FAB* (Fast Atom Bombardment) ou de *LSIMS* (Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry) la technique d'ionisation qui utilise respectivement comme

projectile des atomes neutres ou des ions chargés. Pour ces deux techniques, il est nécessaire de dissoudre l'analyte dans une matrice visqueuse; c'est cette solution qui sera bombardée et permettra la formation d'ions.

Évidemment, cette matrice doit posséder des caractéristiques spécifiques qui la rendra apte à remplir son rôle<sup>9</sup>. Outre le fait qu'elle doit posséder plusieurs caractéristiques physiques, telles une faible tension de vapeur, elle doit aussi être relativement inerte face à l'analyte. Plus spécifiquement, on entend par inertie toutes réactions prenant place entre la matrice et l'analyte, à l'exception des réactions d'échange de protons ou d'électrons. Il existe ainsi une variété de composés qui remplissent ces conditions et ceux-ci sont devenus des matrices d'usage courant, telles le glycérol et le thioglycérol<sup>10-11</sup>.

Rapidement, il s'avéra manifeste que le bombardement induisait, dans certaines conditions et pour certains systèmes, des réactions<sup>12-31</sup>. A priori nuisibles, certaines de ces réactions furent progressivement considérées comme importantes à étudier. On pouvait espérer que l'analyse approfondie de celles-ci apporterait non seulement des solutions pour pouvoir éviter ces phénomènes, mais aussi des indices clés quant à la compréhension des aspects fondamentaux de cette technique.

Il existe plusieurs types de réactions induites par le faisceau en spectrométrie de masse<sup>32</sup>, mais notre projet s'intéresse plus particulièrement aux réactions dites de "réduction", où le patron isotopique de l'ion moléculaire est déformé par l'addition d'un ou plusieurs atomes d'hydrogène à la molécule. Dans les cas extrêmes, on peut faire face à un signal très intense des espèces réduites, qui peut dominer celui de l'ion moléculaire, et par conséquent, mener à une mauvaise interprétation de la masse réelle du composé.

Très tôt, les études ont établi une relation entre le degré de réduction observé et divers paramètres instrumentaux et expérimentaux<sup>33-39</sup> tels l'énergie et la densité du faisceau bombardant, le temps d'irradiation, la nature de la matrice et de l'analyte et la concentration de ce dernier en solution. Malgré la forte influence de ces paramètres sur la présence des espèces réduites dans le spectre de masse, plusieurs études ne les contrôlent ou ne les mentionnent pas, rendant la comparaison difficile sinon impossible.

Cette lacune est un premier problème lorsque l'on aborde l'étude des procédés induits par bombardement. Une deuxième difficulté se présente dans la quantification de ces procédés. En effet de manière générale, l'évaluation de la réduction dans la littérature se fait de manière plus ou moins simpliste<sup>35, 39-40</sup>. Ainsi, il est habituel de prendre le signal excédentaire à la signature isotopique de l'analyte et de l'attribuer entièrement aux espèces réduites. Or, il faut garder à l'esprit que le signal de fond, toujours présent en FAB et en LSIMS, ainsi que la signature isotopique des espèces réduites contribuent à ce signal excédentaire. En somme, le profil du signal dans la région de l'ion moléculaire est en fait une enveloppe découlant de la convolution de plusieurs signaux. Selon les conditions expérimentales et le système étudié, la contribution de ces divers signaux peut être plus ou moins importante. Il en résulte que l'évaluation des procédés de réduction par le signal excédentaire est erronée, puisqu'elle se base sur le signal brut. En utilisant ces degrés de réduction qui sont en fait "apparents", on obtient une fausse illustration de leurs tendances relativement aux diverses conditions expérimentales. Il est alors extrêmement difficile, sinon impossible de dresser un portrait juste du mécanisme sous-jacent. Il n'est pas étonnant alors de remarquer plusieurs interprétations parfois contradictoires rapportées par les diverses études pour expliquer ces réactions de réduction. Le portrait mécanistique que dresse la littérature sur ce sujet reste flou, et ce manque de précision est le reflet d'une approche quantitative déficiente.

Donc avant toute chose, il a fallu trouver un moyen d'évaluer correctement les procédés réels de réduction affectant la région de l'ion moléculaire. Un programme informatique de déconvolution fut élaboré dans nos laboratoires dans le cadre des études doctorales du Dr. Visentini<sup>41</sup>. Ce programme, SIMBROC (Simulated Background and Reduction - Oxidation Calculations), donne des résultats mathématiquement corrects et physiquement significatifs pour les peptides, et fut le sujet de plusieurs publications<sup>33, 34, 42-47</sup>. Le programme définit chacun des procédés rédox comme étant accompagné d'un transfert d'hydrogène. Ainsi, pour un système chimique chargé  $M^+$ , les procédés réels de réduction ( $Red_1$  et  $Red_2$ ) se définissent respectivement comme l'ajout d'un ou deux  $H^+$  à l'ion moléculaire pour donner les espèces  $(M+H)^+$  et  $(M+2H)^+$ . De la même manière, les procédés réels d'oxydation ( $Ox_1$  et  $Ox_2$ ) se définissent respectivement comme l'abstraction d'un ou deux  $H^+$  de l'ion moléculaire pour donner les espèces  $(M-H)^+$  et  $(M-2H)^+$ . Grâce à ce programme, les procédés réels de réduction ( $Red_1$  et  $Red_2$ ) et d'oxydation ( $Ox_1$  et  $Ox_2$ ) ainsi que le signal de fond sont dégagés des valeurs obtenues expérimentalement. À l'aide de cet outil, il est maintenant possible d'entreprendre une étude plus rigoureuse d'un autre système très largement étudié, en l'occurrence les pigments organiques<sup>13, 35-40, 48-51</sup>.

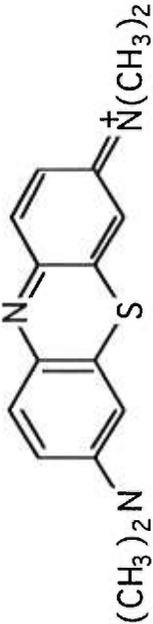
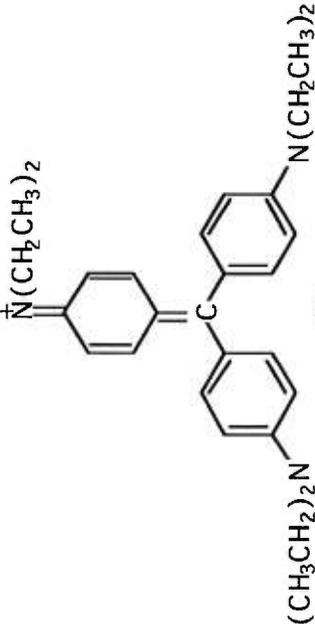
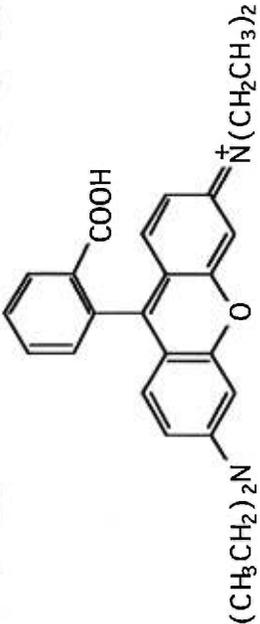
Le but de la présente thèse est en fait multiple: (i) vérifier les conclusions publiées dans la littérature sous diverses conditions expérimentales avec celles obtenus par déconvolution pour notre système modèle, (ii) proposer un schéma mécanistique compatible avec les degrés réels de réduction obtenus, (iii) vérifier ce mécanisme par divers moyens et si possible, établir des parallèles entre celui-ci et ceux proposés pour d'autres procédés induits sous bombardement en spectrométrie de masse. En outre, la présente thèse tentera d'apporter des réponses claires à quelques questions relatives au détail mécanistique des procédés de réduction induits par bombardement:

- \* est-ce que la matrice joue un rôle dans la réduction, et si oui, ce rôle est-il direct ou indirect?
- \* est-ce que la réduction prend naissance en phase gazeuse ou condensée?
- \* est-ce que la formation des espèces  $(M+H)^+$  et  $(M+2H)^+$  est consécutive ou compétitive?
- \* quelles sont les espèces réactives responsables de la réduction, les électrons ou les radicaux, et est-ce la même espèce qui est responsable pour la formation de toutes les espèces réduites?
- \* est-ce que la distribution spatiale de l'analyte dans la gouttelette influence le(s) degré(s) de réduction observée(s) ? ?

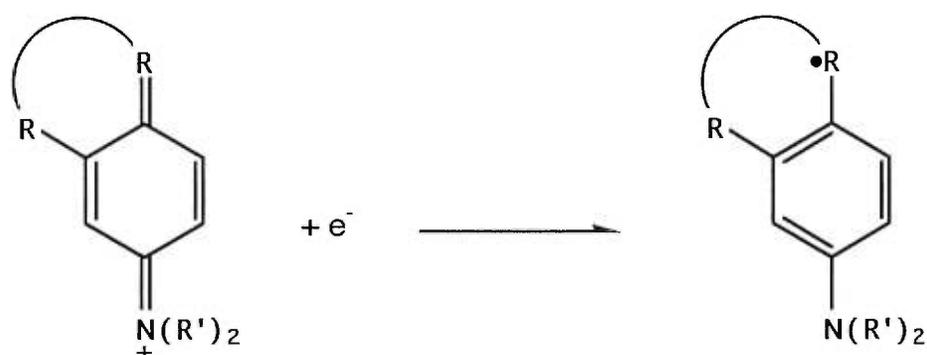
Les structures des pigments organiques utilisés dans notre étude sont présentées dans le Tableau 1.1. Également présentés sont la masse monoisotopique, le potentiel électrochimique standard de demi-vague ( $E^{\circ}_{1/2}$ ) ainsi que les rapports isotopiques naturels calculés pour chacun des composés. Ces rapports théoriques des pics isotopiques sont calculés en utilisant les valeurs d'abondance naturelle des isotopes lourds des éléments chimiques constituant l'analyte.

Une définition du potentiel de réduction peut se trouver dans tous manuels de chimie de référence<sup>156</sup>. Dans une pile électrochimique, le couple oxydant/réducteur est défini par deux réactions rédox complémentaires. La différence de potentiel entre les bornes de la pile provient de la différence des potentiels de chaque électrode. Par convention, le potentiel est toujours exprimé en terme de la réduction et le potentiel de réduction *standard* ( $E^{\circ}$ ) est relatif à l'électrode d'hydrogène. Le potentiel  $E^{\circ}$  est proportionnel au potentiel de demi-vague ( $E' - E_{1/2} = -\frac{0,05916}{n} \log \frac{I}{I' - I}$ ), et tous deux sont de bonnes mesures du

Tableau 1.1 : Cations des pigments organiques utilisés dans la présente étude

Structure	Nom	Masse Exacte	A	A+1	A+2
	Bleu de méthylène -0.269V (MB)	284.1221	100	19.97	6.32
	Crystal Violet -0.642V (VL)	372.2440	100	29.37	4.16
	Rhodamine -0.825V (RH)	443.2335	100	32.47	5.70

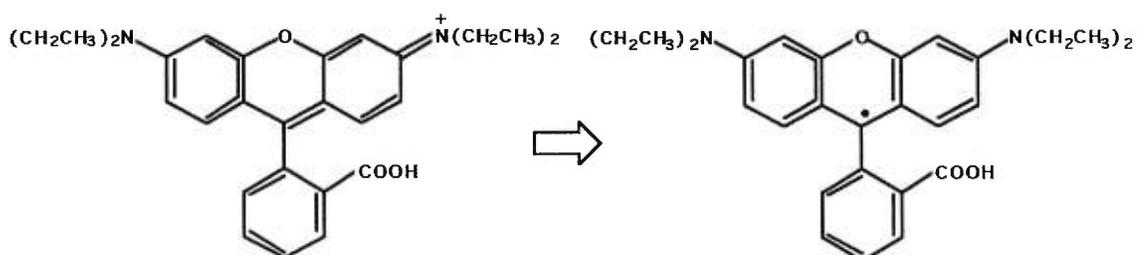
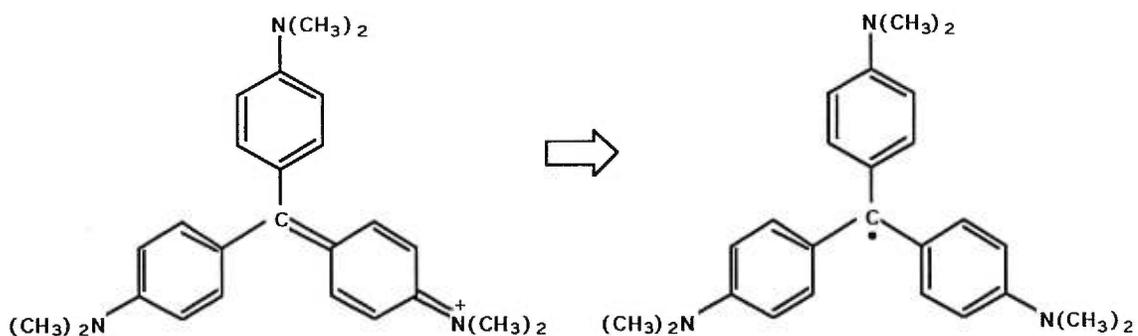
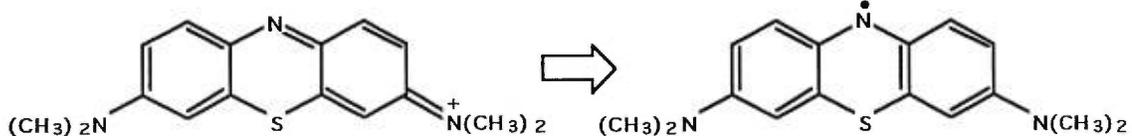
pouvoir réducteur du composé face à la référence. Ainsi, un analyte est d'autant plus réducteur que son potentiel de réduction ( $E^\circ$  ou  $E^\circ_{1,2}$ ) est négatif. En regardant le Tableau 1.1, on dénote que la rhodamine possède le meilleur caractère réducteur parmi les trois analytes, ce qui signifie que ce composé se réduit moins que les deux autres. La réduction est favorisée par une structure aromatique et la présence de groupes fonctionnels électro-attracteurs, synonymes d'orbitales moléculaires de plus basses énergies. Cependant, c'est l'azote de l'hétérocycle du bleu de méthylène qui confère à celui-ci un caractère plus oxydant que les autres pigments. Le groupe fonctionnel électro-attracteur amine quaternaire  $R=N^+R_2$  et la structure de résonance du radical sont commun à nos trois pigments tels que :



Le Tableau 1.2 présente la structure du cation et celle la plus probable pour le radical découlant de la capture électronique.

Le choix du système modèle à l'étude est important et s'appuie sur plusieurs motifs; premièrement, les pigments organiques subissent une réduction parfois assez extensive sous irradiation. Deuxièmement, les pigments organiques sont aussi le sujet de plusieurs études dans d'autres domaines analytiques, telle la radiolyse, et par conséquent, il peut être intéressant d'établir des liens interdisciplinaires. La comparaison entre la

**Tableau 1.2 : Système illustrant les structures prenant part à la capture électronique  $M^+ \rightarrow M^\cdot$**



radiolyse et l'ionisation LSIMS/FAB est intéressante parce qu'il existe des similitudes entre ces deux techniques.

De manière générale, la radiolyse se préoccupe de l'étude des réactions chimiques initiées par l'absorption de radiation ionisante. La radiation peut être de plusieurs natures: noyaux radioactifs (ex: alpha), particules à haute énergie (ex : électrons) ou radiations électromagnétiques de faibles longueurs d'onde. Parce que ces radiations possèdent une grande énergie, l'irradiation d'une solution donnera naissance à un mélange complexe d'espèces excitées, ionisées et radicalaires dans le sillon du projectile. Les électrons éjectés, s'ils possèdent une énergie suffisante, pourront s'éloigner du point d'impact et créer une cascade réductrice. Par collision, les électrons atteindront une énergie thermique et pourront être captés par une molécule neutre ou un cation. Et quoique l'énergie des particules en radiolyse est de l'ordre des MeV alors que celle des particules en LSIMS/FAB est de l'ordre des keV, les phénomènes à la base de ces deux techniques sont similaires.

L'étude des composés choisis permet de s'assurer de la flexibilité du programme SIMBROC et de vérifier qu'il possède un domaine d'application outre la classe des peptides.

L'étude approfondie des tendances des procédés réels de réduction pour les pigments organiques sous diverses conditions expérimentales représente la partie comparative de la thèse. C'est ce qui a permis de démontrer le rôle direct que joue la matrice dans ces réactions rédox. Il semble qu'à tout le moins pour le système étudié, la réduction se produise en phase condensée. La nature de la matrice influence grandement l'inhibition ou l'induction des procédés réels de réduction, indiquant le rôle direct qu'elle joue dans le mécanisme. C'est en fait la nature des espèces générées sous bombardement ou la capacité de la matrice à trapper des espèces réactives qui détermine le degré de réduction observée. Cependant, il serait faux de

croire que ce mécanisme est simple, et ainsi, il semble que le rôle de la matrice peut être indirect. Par exemple, à l'emploi d'une matrice analogue au glycérol, mais possédant une tension de surface moindre, les procédés de réduction sont significativement affectés, indiquant que des caractéristiques physiques peuvent aussi jouer un rôle dans la production sous bombardement d'espèces réduites. De plus, les procédés réels de réduction révèlent un autre aspect intéressant du mécanisme, c'est à dire tel que les deux procédés prennent naissance en des régions différentes de la gouttelette. Alors que la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  se produit vraisemblablement dans les couches en surface, l'espèce  $(M+2H)^+$  prend naissance plus profondément dans la solution. De ce fait résultent des comportements différents des procédés de réduction face à certains paramètres expérimentaux: puisque la variation de la densité du faisceau affecte essentiellement le nombre de projectiles atteignant la cible par unité de temps, c'est le procédé  $Red_1$  qui sera le plus affecté. Dans le même ordre d'idées, une variation de l'énergie du faisceau affectera surtout le procédé  $Red_2$  puisque ce paramètre règle la profondeur de pénétration des projectiles. Ces subtilités des comportements respectifs des procédés réels de réduction exposés par SIMBROC rendent compte de la puissance de l'outil informatique pour ce qui est de l'éclaircissement de points reliés aux études fondamentales en spectrométrie de masse.

Une fois les tendances réelles des procédés de réduction bien définies pour ce système, on tente de comprendre le mécanisme sous-jacent. Dans un premier temps, la mise en relief des procédés réels de réduction  $Red_1$  et  $Red_2$  en fonction du temps indique que la séquence de ces deux procédés est consécutive plutôt que compétitive. Il est également possible pour une paire analyte/matrice particulière, de dégager un ordre de réaction global, qui rend bien compte de la complexité du mécanisme en jeu.

Dans un deuxième temps, c'est l'identité des espèces réactives responsables des réactions de réduction qui retient l'attention. Les études

publiées s'entendent pour impliquer de manière générale les électrons et/ou les radicaux formés sous bombardement dans les procédés de réduction. Leur rôle respectif dans le schéma mécanistique reste toutefois équivoque. Pourtant, l'obtention des procédés réels de réduction nous amène à proposer un mécanisme responsable de la production des espèces réduites sous bombardement et qui est conforme aux données expérimentales; il semble que la capture d'un électron soit l'étape initiatrice menant à la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  alors que la séquence consécutive menant à l'espèce  $(M+2H)^+$  est radicalaire. La confirmation de cette hypothèse s'obtient par diverses approches, entre autres, par des calculs semi-empiriques qui estiment les affinités électroniques des précurseurs menant à la formation des espèces réduites des analytes. Une confirmation supplémentaire de cette hypothèse se retrouve par voie expérimentale et aussi par la comparaison des constantes de vitesse rapportées dans la littérature pour les réactions de nos analytes avec les électrons ou les radicaux.

Essentiellement, le caractère inhibiteur/inducteur de réduction des matrices relève de la capacité de celle-ci à capturer les électrons ou radicaux libres, espèces hautement réactives découlant du bombardement de la solution. Alors que ce schéma général implique fortement la matrice dans le mécanisme de réduction, il appert que le bleu de méthylène pourrait aussi présenter un comportement unique, qui permet la réduction sans l'intervention nécessaire de la matrice. En effet, c'est à sa capacité de former des dimères relativement stables que le bleu de méthylène doit son habilité à effectuer un échange intermoléculaire menant à la formation de l'espèce  $(M+H)^+$ . Ceci est corroboré par les résultats obtenus et soutenu par quelques études fondamentales en photolyse<sup>52-53</sup>.

Somme toute, le mécanisme proposé ici s'inscrit bien dans l'optique de ceux suggérés pour d'autres procédés prenant place en spectrométrie de masse; en effet, à l'instar des autres réactions induites par le bombardement, il

semble que la capture électronique soit en majeure partie l'étape initiatrice du mécanisme de réduction, comme c'est le cas pour la déhalogénéation. Dans ce parallèle qui s'établit entre nos affirmations et celles qui existent pour ces diverses réactions, il se trouve un indice supplémentaire de la cohérence de notre hypothèse, mais aussi une indication qu'il est peut-être possible de proposer un mécanisme global des procédés induits par bombardement pour les techniques de désorption utilisées en spectrométrie de masse.

Il faut toutefois émettre ici une mise en garde; il serait illusoire d'espérer du mécanisme proposé ici un caractère universel et de présumer que celui-ci s'applique sans restriction à tous systèmes subissant une réduction significative sous bombardement en spectrométrie de masse. Cette dernière affirmation est cohérente si on considère que chaque système analyte/matrice est unique et génère sous irradiation des espèces réactives qui lui sont propres; chaque système en particulier est donc susceptible d'être régi par un mécanisme différent. Cependant, il se doit d'y avoir des caractéristiques communes à certains de ces systèmes.

Tout au plus, la présente étude espère pouvoir apporter un regard nouveau et plus juste sur l'étude des procédés de réduction, de manière à accroître la connaissance fondamentale des techniques de désorption en spectrométrie de masse. La justesse de notre hypothèse ne saurait être révélée qu'en soumettant celle-ci à de nouvelles expériences, ce qui nous permettra ainsi de vérifier son objectivité face au comportement de nouveaux systèmes.

## **CHAPITRE 2**

### **PRINCIPES DE BASE ET RÉACTIONS OBSERVÉES EN LSIMS/FAB**

La spectrométrie de masse, née au début du siècle, utilise généralement l'ionisation par électron (EI) pour effectuer l'ionisation nécessaire à la détection. Cependant cette technique d'ionisation, nécessitant une vaporisation préalable de l'analyte, est en fait limitée dans ses applications. Ainsi, l'énergie communiquée à la molécule pour permettre son évaporation peut dans certain cas causer une fragmentation extensive de l'ion moléculaire, ou alors une décomposition thermique préalablement à l'ionisation. Ce n'est qu'avec l'avènement des techniques de désorption (telles le bombardement par atomes rapides (FAB) ou la désorption par ions secondaires en phase liquide (LSIMS)) utilisant une matrice visqueuse au début des années quatre-vingts que la spectrométrie de masse vit ses possibilités analytiques décuplées. L'emploi de ce support liquide permettait l'analyse de substances polaires ou thermolabiles par le bombardement de la solution. De plus, on pouvait maintenant analyser des molécules de plus grandes masses, puisque l'ionisation ne nécessitait plus une vaporisation préalable. C'est donc l'étude des nucléotides, des peptides, des saccharides, et autres biomolécules qui a profité de la venue des méthodes de désorption comme technique de routine.

Néanmoins l'emploi d'une matrice peut aussi apporter des inconvénients. Premièrement, le spectre caractéristique de la matrice devient source de problèmes lorsque celui-ci interfère avec le signal de l'analyte. De plus, il existe toujours la possibilité d'interactions initiées par le bombardement entre la matrice et les analytes, qui mènent à des modifications structurales indésirables. Ces réactions sont diverses et se produisent de plus en plus fréquemment, ce qui en font une source d'intérêt grandissante. Une meilleure compréhension de ces réactions est non seulement essentielle pour pouvoir les contrer mais aussi pour pouvoir comprendre d'avantage les mécanismes qui les régissent. Une partie de ce chapitre sera donc consacrée aux diverses réactions induites par le faisceau observées pour la technique LSIMS/FAB.

De toutes les réactions qui prennent place sous les conditions LSIMS/FAB, ce sont les réactions dites de réduction qui suscitent le plus d'intérêt, entre autres les réactions de réduction qui affectent la région de l'ion moléculaire. Celles-ci se manifestent par l'addition d'atomes d'hydrogène à l'ion moléculaire, ce qui mène à une déformation du patron isotopique caractéristique de cet ion.

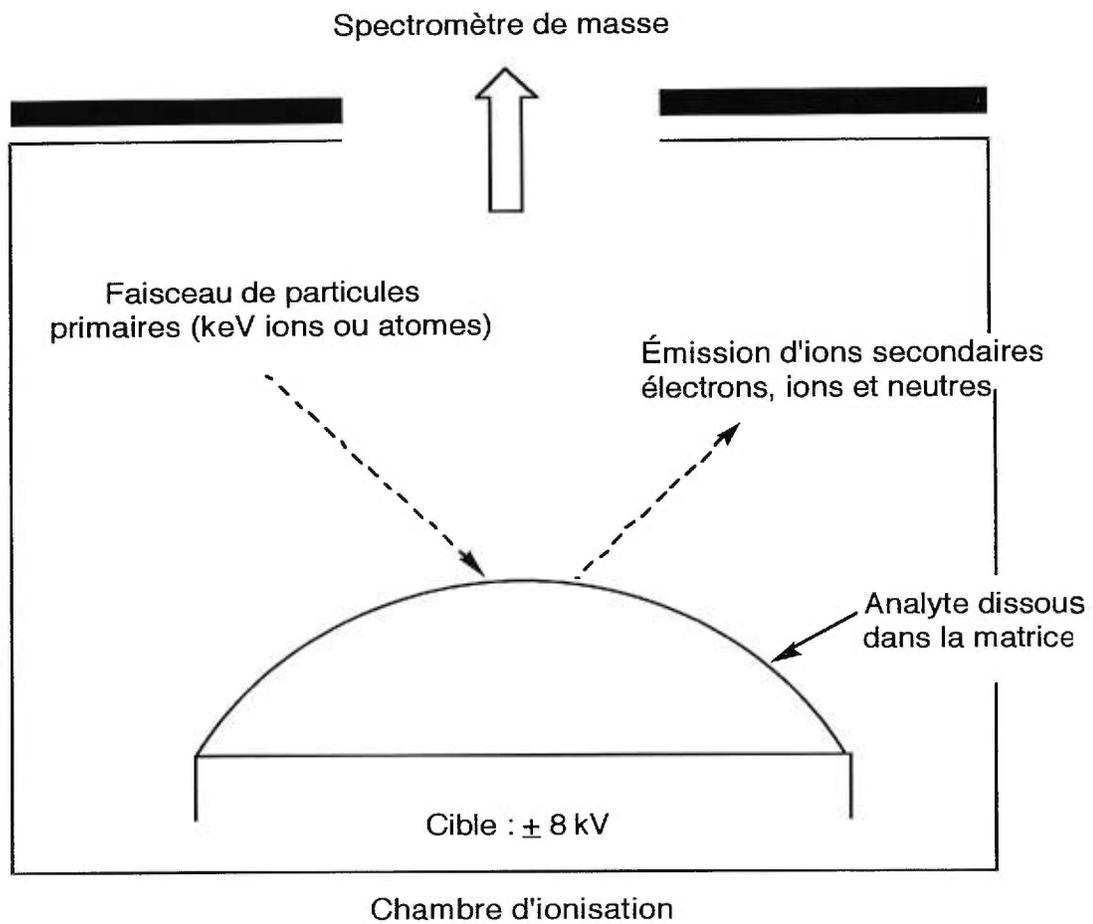
Il existe cependant une lacune évidente quant à l'évaluation quantitative de ces procédés de réduction dans la littérature. Il s'ensuit que les conclusions relatives au mécanisme gouvernant ces procédés peuvent être erronées. Un survol des divers paramètres expérimentaux affectant de manière significative le degré de réduction apparent est suivi d'un aperçu des méthodes d'évaluations de ces procédés rédox exposées dans la littérature. Une discussion suivra sur l'emploi et la nécessité de SIMBROC, un programme de déconvolution développé dans notre laboratoire, pour la détermination des procédés "réels" de réduction et d'oxydation. L'emploi de cet outil informatique est au cœur de notre étude quantitative des réactions rédox qui affectent la région de l'ion moléculaire. Grâce aux tendances de ces procédés, dans diverses conditions expérimentales révélées par SIMBROC, il sera possible de proposer un mécanisme qui explique les résultats obtenus pour notre système modèle, les pigments organiques.

Une autre partie de ce chapitre sera consacrée au sommaire des mécanismes d'ionisation qui ont été proposés depuis l'avènement de la technique LSIMS/FAB. En effet, il existe toujours une certaine controverse quant aux mécanismes responsables de la production d'ions dans cette technique. Il semble que les considérations thermodynamiques impliquées dans le procédé d'ionisation ne peuvent être aisément expliquées. Une partie traitant des divers paramètres chimiques et physiques qui influencent l'aspect des spectres LSIMS/FAB fait aussi partie de ce chapitre.

## 2.1 Principe de la technique d'ionisation LSIMS/FAB

L'analyse par LSIMS ou FAB est relativement simple, et les deux techniques utilisent une source d'ionisation au design de base similaire. La Figure 2.1 présente un schéma simplifié d'une telle source d'ionisation LSIMS ou FAB typique. Les solutions déposées en aliquots de quelques microlitres, sont préparées soit au préalable soit directement sur la cible de métal. La sonde est ensuite insérée dans la chambre d'ionisation que forme la source. Le bombardement s'y tient dans un vide  $\sim 10^{-5}$  mbar. La solution est bombardée par un faisceau de projectiles, et le mode d'ionisation dicte la nature de ces projectiles; en FAB le faisceau est composé d'atomes neutres (le plus souvent de l'argon  $\text{Ar}^0$  ou du xénon  $\text{Xe}^0$ ), alors que celui utilisé en LSIMS est composé d'ions (communément le césium,  $\text{Cs}^+$ ). En FAB, les atomes du faisceau bombardant sont accélérés avant d'être neutraliser. La tension utilisée pour accélérer ces ions primaires vers l'échantillon est généralement entre 10-50 kV. C'est le bombardement par ces projectiles à hautes vitesses qui induit la formation et l'émission de particules secondaires, soit des électrons, des ions et des particules neutres. Les spectres d'ions secondaires obtenus pour les composés organiques soit par FAB soit par LSIMS sont à toutes fins pratiques, identiques. Les conclusions peuvent souvent être transposées de l'une de ces techniques à l'autre. En effet, quoique la nature du faisceau soit différente, les résultats expérimentaux obtenus par les deux techniques ne sont pas significativement différents. On utilise communément le mode positif, pour lequel ce sont alors les ions positifs qui seront accélérés vers le spectromètre de masse, où ils seront éventuellement détectés. Les ions que l'on peut observer dans un spectre de masse obtenu en mode positif sont:

- les ions provenant de la matrice employée, c'est-à-dire des ions fragments ou des ions agglomérats caractéristiques de celle-ci



**Figure 2.1** : Représentation schématique d'une source d'ionisation LSIMS/FAB

- l'ion moléculaire  $(M)^+$  ou l'ion pseudo-moléculaire  $(M+H)^+$  de l'analyte , accompagné par leur pics isotopiques  $(M+n)^+$  ou  $(M+n+H)^+$  où  $n \geq 1$ , pour respectivement un composé chargé ou neutre en solution
- les ions fragments caractéristiques de la structure de l'analyte
- les ions cationiques de l'ion moléculaire  $(M+C)^+$  et de la matrice  $(G_m+C)^+$  où  $C^+$  représente un ion métallique en solution et G la matrice, ( $m \geq 1$ )
- les ions agglomérats analyte-matrice, tels  $(M_n G_m H)^+$  où M représente l'analyte et G la matrice ( $m \geq 1, n \geq 1$ )

## 2.2 Mécanismes de désorption-ionisation; Modèles proposés

Le mécanisme de désorption-ionisation (DI) décrit comment, à partir d'une phase condensée, on peut obtenir des ions en phase gazeuse. Mais quoique la technique LSIMS/FAB ait vu le jour au début des années quatre-vingts, certains aspects du mécanisme qui sous-tend cette technique sont encore controversés. En effet, le nombre de réactions qui peuvent prendre place sous les conditions expérimentales de l'ionisation LSIMS/FAB est énorme. Dans ces circonstances, il est compréhensible que la définition claire et juste du mécanisme responsable de l'ionisation soit difficile à atteindre. De plus, il faut souligner que les différents paramètres physiques qui régissent cette technique sont probablement interdépendants, ce qui rend la mesure de leur contribution individuelle difficile.

Il existe tout de même des hypothèses, découlant de résultats expérimentaux obtenus pour divers systèmes, qui tentent d'expliquer la formation des ions observés dans les spectres de masse LSIMS/FAB. Dans certaines études, les données semblent indiquer que le mécanisme responsable de l'ionisation prend place en phase condensée alors que d'autres systèmes semblent obéir plutôt un mécanisme résultant de réactions

ion/molécules en phase gazeuse. Dépendant de l'endroit où l'on suppose que l'ionisation se produit, on attribue le nom de "modèle en phase condensée" ou "modèle en phase gazeuse" aux hypothèses présentées dans la littérature. Cette dichotomie peut s'expliquer en proposant le fait que l'ionisation peut découler des deux mécanismes, et que leur contribution respective à la formation des ions est tributaire du système analysé et des caractéristiques de celui-ci. Donc, l'ionisation d'un composé volatil pourrait être régie de manière plus importante par le modèle en phase gazeuse par exemple.

### **2.2.1 Modèle en phase condensée**

Il existe deux approches pour expliquer la formation des ions en phase condensée. En un premier temps, on peut imaginer que l'ionisation est en fait antérieure au bombardement, et donc que les ions sont préformés en solution. Dans ce cas, le bombardement n'a pour objet que l'éjection des ions déjà formés. Dans un deuxième temps, on peut croire que l'ionisation est en fait le fruit du bombardement lui-même. Évidemment, il est possible que ce soit la combinaison de ces deux procédés qui mène à l'ionisation.

Le modèle décrivant une éjection d'ions sans étape d'ionisation est appelé le modèle "précurseur"<sup>54-56</sup>. C'est donc à dire que ce modèle explique la formation des ions comme découlant d'un équilibre en solution et que cet équilibre est régi par la nature de la matrice utilisée. Il existe un schème qui explique la désorption des ions pour le modèle précurseur. Celui-ci se déroule en trois étapes, soit l'impact, le transfert d'énergie dans un volume donné et enfin l'éjection des ions secondaires de la surface de la solution. Un temps relativement court est attribué au déroulement de l'impact et de la désorption, soit  $< 10^{-12}$  s, avec comme conséquence possible une excitation vibrationnelle moindre des molécules éjectées. Il appert que l'énergie

transférée dans la région immédiate au point d'impact soit assez importante pour causer le bris de certains liens chimiques des molécules d'analyte ou de matrice, menant donc à l'émission de fragments<sup>54</sup>. Outre cette émission directe, les fragments peuvent aussi résulter de la dissociation unimoléculaire dans le parcours de l'instrument des ions moléculaires désorbés. L'impact engendre aussi la désorption des ions préformés et des ions agglomérats.

Wong et Rollgen<sup>55</sup> ont proposé un autre mécanisme pour expliquer la formation des ions précurseurs, qui fait plutôt appel à l'éjection de micro-gouttelettes chargées. Dans ce modèle, on suppose que le bombardement solution, cette succession de collisions dans la solution, provoque la vaporisation rapide des molécules, résultant ainsi en une augmentation de la pression locale. Cette augmentation produit l'éjection d'agglomérats moléculaires ioniques ou neutres de différentes dimensions. Une fois éjecté, cet agglomérat peut se décomposer en espèces de plus petites tailles. Ces micro-gouttelettes chargées, que l'on présume formées en solution, sont instables. Il s'en suit une évaporation successive des molécules de solvant qui forment cette micro-gouttelettes<sup>56</sup>.

Lorsqu'on tente d'expliquer la génération d'un spectre ionique LSIMS/FAB pour les composés neutres en solution, les modèles proposés ci-dessus sont quelquefois inadéquats. Des auteurs<sup>57-61</sup> ont suggéré que l'ionisation pour ces systèmes pouvait en fait découler de procédés prenant place dans la phase liquide et induits par le faisceau bombardant. Par exemple, Todd<sup>61</sup> suggère que les espèces générées par le faisceau bombardant peuvent diffuser dans la matrice et provoquer l'émission d'ions secondaires. Il propose<sup>58</sup> une étude avec les n-alkylamines pour étayer ses hypothèses. Dans cette expérience, les amines en phase gazeuse sont introduites dans la chambre d'ionisation sur la surface du glycérol. L'intensité des ions observés des amines protonées est en fait beaucoup plus élevée que la concentration prédite par la loi de Henry. L'auteur explique ceci en

supposant que le précurseur de l'amine protonée observée dans le spectre, est en fait l'amine protonée formée en solution sous l'effet du bombardement.

Les résultats d'une autre étude témoignent aussi d'une ionisation en phase condensée. Pour une série d'acétals cycliques ainsi que leurs analogues deutérés, Paul et al.<sup>60</sup> observent les ions  $(M-H)^+$  et  $(M-D)^+$  dans les spectres LSIMS/FAB. Cependant, l'analyse par ionisation chimique (CI) de ces mêmes composés produit l'ion moléculaire  $(M+H)^+$ . La comparaison des résultats obtenus par ces deux techniques mène à la conclusion que la formation de l'espèce prédominante  $(M-H)^+$  pour l'acétal non-deutééré en LSIMS/FAB ne peut être expliquée par les réactions connues ions/molécules en phase gazeuse responsables de l'ionisation en CI, et signale donc une ionisation prenant place en phase condensée pour la technique LSIMS/FAB. Les auteurs<sup>59</sup> proposent un modèle pour expliquer ces observations; il se pourrait que l'état de transition multi-chargé qui mène à l'abstraction de H dans ce système soit mieux solvaté que l'état de transition menant au transfert de proton. Cependant, cette explication ne peut être appliquée à la formation des acétals cycliques deutérés, où une importante dépendance de temps est observée. Encore une fois, cette variation avec le temps est difficile à expliquer si l'ionisation a lieu en phase gazeuse. Ce comportement suggère plutôt que l'abstraction de H est initiée par des espèces réactives induites par le bombardement; celles-ci pourraient très bien s'accumuler dans la solution au cours de l'analyse et produire des données expérimentales dépendantes du temps. Cette hypothèse est en fait supportée par les résultats obtenus pour des acétals deutérés ayant des activités de surface différentes<sup>59</sup>.

Sunner<sup>62</sup> a récemment publié un compte rendu détaillé des procédés d'ionisation en LSIMS/FAB à ce jour. Face aux évidences présentées dans la littérature, l'auteur conclut que l'ionisation en phase gazeuse est, dans la majorité des cas, un procédé peu important dans la formation d'ions en LSIMS/FAB.

### 2.2.2 Modèle en phase gazeuse

C'est la similitude entre certains spectres obtenus par ionisation chimique (CI) et les spectres obtenus par LSIMS/FAB qui est à la base de l'intérêt que l'on prête au modèle en phase gazeuse. En effet, l'ion parent  $(M+H)^+$  ainsi que des patrons de fragmentation similaires sont parfois observés pour les spectres CI et LSIMS/FAB. Sunner<sup>62</sup> a donc proposé que l'ionisation en LSIMS/FAB pouvait être gouvernée par des réactions ions/molécules en phase gazeuse semblables à celle qui expliquent l'ionisation en CI.

Ce modèle en phase gazeuse présume qu'au dessus de la surface liquide de la solution, se trouve une région de densité élevée, hautement réactive où se trouvent des espèces ioniques et neutres. Dans ce micro-plasma, que l'on dénomme la région "selvedge" en anglais, peut se produire l'ionisation, via des réactions entre des espèces hautement réactives ioniques ou neutres, comme dans le procédé CI.

Schroder et al.<sup>63</sup> avec des calculs simples de pression de vapeur dans la source LSIMS/FAB, démontrent qu'au dessus de la surface de la matrice, des régimes de pressions comparables à une source CI se produisent. L'auteur propose donc que l'ionisation en LSIMS/FAB se produit en phase gazeuse, dans le micro-plasma généré par le bombardement près de la surface. Son modèle implique tout d'abord un transport vers la surface des analytes par diffusion, suivie de la désorption des molécules neutres de matrice et d'analyte, puis enfin de l'ionisation de la molécule de matrice par interaction avec le faisceau primaire. L'ionisation de l'analyte est ensuite effectuée par des réactions du genre CI entre l'analyte et la molécule de matrice ionisée.

À partir d'une série de résultats quantitatifs, Sunner<sup>64-65</sup> a postulé que c'est en fait l'ion de la matrice protonée qui est l'espèce réactive responsable des transferts de proton vers l'analyte par des réactions collisionnelles ions/molécules. Dans ce modèle on suppose que l'excès énergétique communiqué pendant les collisions ionisantes est dissipé par des collisions subséquentes non réactives. Ce modèle est appuyé par des résultats<sup>64-65</sup> qui font la corrélation entre le caractère basique en phase gazeuse d'analytes et de matrices et leurs intensités relatives dans le spectre obtenu par FAB. Quoique cette relation ne puisse être expliquée par le modèle précurseur en phase liquide, il faut souligner que les valeurs du caractère basique en phase gazeuse ne sont connues que pour une petite quantité de composés volatils<sup>157</sup>. Il est donc possible que cette relation entre l'intensité observée et le caractère basique de l'analyte ne s'applique pas pour des molécules de plus grandes tailles, moins volatiles ou thermolabiles qui sont habituellement analysées en LSIMS/FAB. De plus, même s'il explique de manière adéquate la formation des ions moléculaires, des dimères et des fragments, ce modèle n'arrive pas à expliquer la formation des agglomérats moléculaires de plus de trois molécules. Ces derniers sont couramment observés dans les spectres LSIMS/FAB, e. g. les agglomérats du glycérol qui sont aisément observables jusqu'à  $(G_{10}+H)^+$ .

Une théorie unifiée de l'ionisation qui s'applique à plusieurs techniques de désorption a été proposée par Cooks<sup>66</sup>. Dans ce modèle, on propose que l'énergie communiquée par le faisceau d'ions primaires est distribuée dans le volume échantillonné par ionisation, transfert de momentum ainsi que par excitation vibrationnelle et rotationnelle. Le résultat de ce transfert énergétique est la désorption d'électrons, de photons, de radicaux, d'ions et de molécules neutres à partir de la solution. L'auteur explique la formation de l'ion moléculaire observé dans le spectre LSIMS/FAB par la contribution des deux modèles, soit le modèle précurseur en phase condensée et le modèle en phase gazeuse; c'est-à-dire que la désorption d'ions préformés en solution

tout aussi bien que la désorption de neutres suivie par des réactions ions/molécules en phase gazeuse au-dessus de la surface, peuvent contribuer à la formation des ions moléculaires observés dans les spectres. Quant aux agglomérats et autres ions secondaires, leur présence peut s'expliquer par l'interaction entre des ions ou des neutres provenant de la solutions et des ions ou fragments formés dans le micro-plasma au-dessus de la surface du liquide. La fragmentation est attribuée à l'impact direct avec le faisceau bombardant, ou à la dissociation unimoléculaire des espèces moléculaires désorbées.

Ce modèle unifié englobe donc des aspects des modèles en phase gazeuse et en phase condensée, et par ce fait, n'est pas suffisamment spécifique quand il s'agit de désigner lequel des procédés est responsable de l'ionisation pour une classe de composés. De plus, ce modèle ne réussit pas à donner la contribution relative de ces divers procédés dans le procédé global d'ionisation.

## **2.3 Paramètres physiques et chimiques en LSIMS/FAB**

Quand il s'agit de la génération d'un spectre de masse, on détient une certaine latitude quant aux divers paramètres capables de maximiser le signal généré. Ces paramètres physiques et chimiques sont brièvement exposés dans les sections suivantes.

### **2.3.1 Paramètres physiques**

#### **a) Angle d'incidence**

L'angle d'incidence du faisceau joue sur l'intensité des ions observés. Magee<sup>67</sup> propose que la fragmentation est fortement influencée par l'angle du faisceau. Ainsi, un angle incident normal produirait beaucoup plus de

fragmentation et donc un signal plus faible pour l'ion moléculaire. Martin<sup>68</sup> montre qu'un signal optimal de l'ion moléculaire est obtenu avec un angle de  $\theta=60^\circ$  relativement à la surface de la cible.

#### b) Nature du faisceau bombardant

Comme nous l'avons mentionné en début de chapitre, les résultats expérimentaux obtenus par les techniques FAB et LSIMS ne sont pas significativement différents. En effet, il appert qu'un projectile chargé ou neutre, donne un spectre similaire en terme de qualité, d'aspect, d'intensité ou de durée du signal<sup>6</sup>. C'est pourquoi dans la présente étude, nous employons souvent l'appellation LSIMS/FAB en ce qui a trait à la discussion des résultats obtenus par LSIMS et aux conclusions qui s'y rapportent. Cependant, il est évident que l'usage d'un faisceau composé de projectiles chargés est avantageux par la possibilité de mesurer directement le flux de particules qui atteignent la cible et par la facilité à le faire converger.

### 2.3.2 Paramètres chimiques

#### a) Rôle de la matrice

Il est indéniable que le rôle de la matrice dans la technique LSIMS/FAB est de premier plan. En effet, son choix influencera fortement l'aspect du spectre obtenu et d'autre part, son emploi préserve l'analyte en solution d'une interaction directe avec le faisceau bombardant, et ce même à des densités de faisceau élevées. De ce fait, un courant d'ions secondaires persistant est obtenu, tout en réduisant les dégâts causés à l'analyte par l'irradiation. Ce rôle d'amortisseur joué par la matrice a souvent valu aux techniques de désorption l'appellation de technique d'ionisation "douce", puisque les spectres obtenus renferment peu d'ions fragments. Ceci représente un avantage du point de vue de l'analyse puisqu'on s'assure ainsi d'un signal

provenant de l'ion moléculaire plus intense. La matrice assure aussi le réapprovisionnement de la surface en analyte, assurant ainsi un courant ionique stable.

Il n'existe pas de matrice universelle, mais plutôt un ensemble de matrices, chacune ayant des propriétés qui peuvent s'avérer spécifiques pour un système donné. Malgré la variété de composés utilisés comme matrice<sup>11</sup>, tous doivent posséder des propriétés physiques et chimiques de base afin d'être considérée comme adéquats pour l'analyse LSIMS:

### *1) Capacité de dissoudre l'analyte*

La matrice choisie doit pouvoir dissoudre aisément l'analyte, avec ou sans l'ajout d'additif ou cosolvant. Ces additifs sont souvent des sels, des substances acides ou alcalines. Dans le cas où la dissolution n'est pas réussie, le signal est souvent faible et instable, donc non reproductible. La dissolution permet à la matrice de faire diffuser plus efficacement les molécules d'analyte à travers le volume échantillonné par le faisceau, permettant ainsi la régénérescence de la surface par l'évacuation des produits découlant du bombardement.

### *2) Faible tension de vapeur ( $< 10^{-4}$ torr)*

Puisque l'analyse dans le spectromètre de masse s'effectue sous vide, on recherche habituellement une matrice ayant une faible volatilité. Certaines matrices volatiles, comme le sulfolane peuvent très bien donner un spectre mais la vie du signal est de courte durée. Un signal stable dans le temps est désirable pour des mesures de masses exactes ou pour des analyses MS/MS.

### *3) Caractère inerte de la matrice face à l'analyte*

Il est évident que les réactions qui modifient la structure de l'analyte ne sont pas souhaitables. On recherche donc une matrice qui est inerte face à

l'analyte. Si toutefois il y a réaction chimique entre ces deux composés, celle-ci doit s'effectuer de manière reproductible, et donc être prévisible.

#### *4) Caractère inoffensif*

La matrice doit évidemment s'avérer sans risque pour l'utilisateur. Elle doit aussi être relativement sans danger pour l'instrument.

#### *5) Signal ionique faible*

La matrice doit pouvoir donner un signal ionique reproductible qui peut être aisément identifié. Ce signal de fond (background noise) est communément appelé "bruit chimique" par les chercheurs dans le domaine de la spectrométrie de masse. Celui-ci devrait décroître rapidement au fil de l'échelle de masse, de manière à ce que la contribution de celui-ci aux hautes masses soit faible.

Parmi les matrices qui sont fréquemment utilisées, on retrouve le glycérol, le thioglycérol, le disulfure de dihydroxyéthyle (HEDS) ainsi que l'alcool méthanitrobenzylique (NBA). En plus des caractéristiques de base citées ci haut, d'autres facteurs peuvent justifier l'emploi d'une matrice pour un système spécifique, comme sa capacité à trapper les radicaux formés sous bombardement.

#### *6) Acidité/basicité relative de la matrice versus l'analyte*

Dépendamment dans quel mode (positif ou négatif) le spectre de masse est obtenu, c'est l'acidité ou la basicité relative de la matrice face à l'analyte qui influencera l'apparence du spectre de l'analyte. Par exemple en mode positif, la stabilité thermodynamique en solution des cations de l'analyte est liée à l'acidité relativement plus élevée de la matrice ( $pK_a$ ) face à l'analyte; le transfert de proton s'effectuera ici de manière à former l'espèce protonée  $[\text{Analyte}+\text{H}]^+$ , et contribuera à un signal relativement intense. En

effet, Caprioli<sup>76</sup> a démontré qu'il existe une corrélation entre l'équilibre en solution de ces ions et l'abondance de ceux-ci en phase gazeuse. Dans le cas d'espèces chargées sous l'effet du bombardement, l'abondance des ions moléculaires est reliée au caractère basique en phase gazeuse de l'analyte, tel qu'un composé plus basique relativement à la matrice sera plus facilement protoné<sup>64,65,79</sup>.

#### b) Influence de la température

Le contrôle de la température peut améliorer le signal et il semble que ceci soit relié à la diminution de la viscosité ou à la vitesse d'évaporation de la matrice employée. De plus, une étude<sup>69</sup> sur l'effet de la température sur les spectres du méthanol, glycérol et éthylène glycol, rapporte que la température semble aussi jouer un rôle sur l'identité des espèces observées dans ces spectres. Ainsi à haute température, les ions moléculaires dominants témoignent que l'énergie communiquée par le faisceau est surtout employée pour briser des liens intermoléculaires. Par contre, à basse température, on observe une fragmentation extensive qui démontre que l'énergie transférée sert ici plutôt à rompre des liens intramoléculaires. Ces trois composés de la classe des alcools ont tendance à former des chaînes polymériques provenant des liens hydrogène forts qu'ils forment; aux basses températures ceux-ci deviennent plus solides.

#### c) Influence de l'acidité du milieu

Il a été démontré<sup>70</sup> que l'ajout d'acide fort (HCl) ou de base forte (NaOH) à des solutions glycéroliques de bases et d'acides organiques respectivement avait des effets significatifs sur l'abondance d'ions secondaires observés dans les spectres de masse. En effet, les additifs qui peuvent promouvoir la formation d'ions, produiront des spectres plus intenses. Cependant, cet ajout ne donne pas toujours des résultats uniformes, allant même jusqu'à donner

des effets contraires. Shiea<sup>71</sup> propose plusieurs explications à propos de l'effet que peut produire l'ajout d'un acide à la solution, et par extension sur l'aspect du spectre de cette solution. Par exemple, il démontre que l'ajout d'un acide à une solution glycérolique d'octa-ethylporphyrine entraîne un signal plus intense en raison d'une meilleure solubilité de l'analyte en milieu acide, et non pas parce que ce milieu favorise la formation d'ions préchargés. Il démontre également que l'acidité du milieu peut jouer sur l'activité de surface des analytes et sur la chimie radiative qui prend place dans la solution.

#### d) Présence de surfactants

Il est généralement reconnu que la meilleure sensibilité est obtenue pour les composés qui sont chargés en solution. Cependant, il est aussi vrai qu'un analyte ayant une faible activité de surface peut engendrer un signal faible. C'est donc à dire que le signal obtenu pour un composé dépend de sa concentration en surface. Cette concentration peut être variée soit en changeant la matrice soit en ajoutant des substances surfactantes. Ces dernières peuvent accroître la quantité d'analyte en surface, et de ce fait, augmenter le signal de celui-ci. Pour éviter des interférences supplémentaires dans le spectre, l'utilisation des surfactants chargés négativement pour l'analyse de substances en mode positif est préférable. Par exemple, Ligon<sup>72-73</sup> démontre bien que l'ajout de stéarate de tétraméthylammonium change la réponse relative pour un mélange équimolaire dans le glycérol de bromures de n-alkyltriméthylammonium. L'ajout d'un surfactant à un mélange diminue l'importance des différences des activités de surface respectives des composés en présence.

#### e) Influence du temps d'analyse

L'apparence des spectres de masse varie en fonction du temps. Cette variation est due à la modification de la composition de la surface. Ainsi, au fur

et à mesure que la matrice s'épuise, le signal diminue mais il peut être amplifié à nouveau simplement en rajoutant un peu de matrice sur la cible. En variant certains paramètres, comme la densité du faisceau par exemple ou en utilisant une matrice moins volatile, il est possible de jouer sur la durée de vie du signal.

#### **2.4 Survol des réactions induites par le bombardement en LSIMS/FAB**

Il existe toujours le risque, en employant une matrice, d'introduire des interférences dans le spectre de masse de l'analyte. Ces interférences sont généralement facilement identifiables et consistent généralement d'ions de la matrice isobare à un ion de l'analyte, d'adduits matrice-analyte ou d'adduits formés d'ions métalliques. Il est possible de remédier à ces interférences en changeant de matrice, en variant la concentration de l'analyte dissous ou en éliminant le signal de fond par traitement informatique.

Mais un autre type d'interférences s'avère beaucoup plus difficile à éliminer, soit les réactions analyte-matrice qui résultent en une modification de la structure de l'analyte et qui se produisent sous le bombardement. Parce qu'elles prennent place sous les conditions de bombardement, elles sont parfois difficiles à prévoir simplement par l'examen du couple matrice/analyte. Il y a une quantité croissante de ces réactions chimiques pour les techniques de désorption seules ou couplées à d'autres méthodes d'analyse, telles les techniques de chromatographies liquides. Il est question ici des réactions induites par la déposition en solution de l'énergie communiquée par le bombardement, et non pas des réactions en phase gazeuse communes à la spectrométrie de masse telle la décomposition unimoléculaire.

La littérature récente fait mention d'une variété de types de réactions. Par exemple, Aubagnac et al. ont rapporté la substitution de groupe  $-\text{NO}_2$  par un hydrogène<sup>23</sup>, la déhydroxylation des peptides<sup>22</sup> et la réduction d'un groupe  $-\text{N}_3$  en  $-\text{NH}_2$ <sup>19</sup> en FABMS. Ces réactions induites n'ont reçu, jusqu'à présent, qu'une attention superficielle. Quoiqu'à première vue certaines de ces réactions soient indésirables, elles présentent tout de même un intérêt indéniable puisque l'étude de celles-ci peut mener à la compréhension du mécanisme même d'ionisation en LSIMS/FAB. Parallèlement, une meilleure connaissance du mécanisme de ces réactions peut aussi mener à prévoir et donc, à enrayer celles-ci pour de nouveaux systèmes. Les sections subséquentes exposent les grandes classes de réactions induites par le bombardement communément observées en LSIMS/FAB, soit les réactions acide-base, de substitution et d'addition et enfin d'oxydation-réduction.

#### 2.4.1 Réaction acide-base

Le signal de l'ion moléculaire généré par une espèce organique neutre (M) par désorption est de la forme  $(\text{M}+\text{H})^+$  ou  $(\text{M}-\text{H})^-$  dépendant du mode de fonctionnement de l'appareil. La formation de ces ions découlent de réactions acide-base de type Brönsted, i.e. qui impliquent un transfert de protons entre un couple acide-base; il existe des indications que ces réactions se produisent avant le bombardement ou bien qu'elles découlent de réactions ion-molécule initiées par le bombardement<sup>32</sup>. Des études<sup>5, 32, 68, 74</sup> ont démontré que l'ajout d'acide (HCl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  par exemple) à un échantillon a souvent pour effet l'augmentation du signal de l'ion  $(\text{M}+\text{H})^+$  dans les spectres LSIMS/FAB. Inversement, c'est l'ajout d'une base à un échantillon qui accentue le signal en mode négatif. Musselman<sup>75</sup> montre par spectroscopie UV-vis que l'acidification des aliquots de porphyrines donnent des ions préformés dans le glycérol avant le bombardement. D'autres résultats démontrent<sup>76-77</sup> que l'on peut calculer les valeurs de  $\text{pK}_a$  de certains acides, à l'aide des intensités des

pics observés en fonction du pH dans les spectres FAB. Les  $pK_a$  ainsi obtenus sont assez précis, étant à  $\pm 0.05$  unités des valeurs rapportées dans la littérature.

Par contre, une autre étude rapportant des résultats <sup>78</sup> pour une solution glycérolique de glycine indique que l'abondance des ions  $(M+H)^+$  observés ne peut être expliquée seulement par un équilibre en solution. Il semble donc que la production des ions moléculaires dans cette étude doit être induite par le bombardement. D'autres résultats obtenus par Sunner et al. <sup>64-65, 79</sup> pour des mélanges binaires montrent que le signal du composé ayant le caractère basique en phase gazeuse le plus faible sera étouffé à cause d'un transfert protonique vers un composé plus basique.

Donc, les composés organiques analysés par désorption affichent clairement leurs caractères acido-basique, indépendamment du moment où se produisent ces réactions, soit avant ou pendant le bombardement. La chimie acido-basique de Brønsted repose fortement sur le choix des paramètres expérimentaux et des analytes.

Il existe un deuxième type de réactions acide-base observées dans les spectres LSIMS/FAB, soit les réactions de type Lewis où il y a échange d'un doublet d'électrons dans un couple acide-base. En mode positif, le couple est souvent formé du composé organique (la base) et d'un cation métallique (l'acide). Les ions générés sont de type  $(M+Ag)^+$  ou  $(M+Na)^+$  par exemple, et il s'agit alors de cationisation. En mode négatif, la contrepartie du procédé de cationisation est celui d'anionisation, où le composé organique agit comme acide de Lewis et un anion, tel  $H^-$  ou  $Cl^-$ , agit comme de base de Lewis.

Les pics résultant de la cationisation apportent une signature isotopique utile dans l'identification structurale ou la détermination de la masse d'un composé <sup>32</sup>. Il semble que la cationisation se produit par des réactions

ion/molécule dans le micro-plasma au-dessus de la surface de la solution, où la densité des particules est élevée. Selon cette hypothèse, la stabilisation des ions ainsi formés peut être effectuée par des collisions subséquentes dans cette région hautement peuplée<sup>80-81</sup>. Une autre étude<sup>82</sup> en désorption par laser rapporte que l'ion  $(M+Na)^+$  provenant de la cationisation entre le sucrose et le NaCl peut se former dans la phase gazeuse.

Il est certain que la cationisation implique une compétition entre la matrice et l'analyte pour ce cation métallique<sup>81</sup>. À titre d'exemple, le glycérol, qui possède une affinité élevée pour les cations métalliques alcalins, arrive souvent à supprimer totalement la cationisation de l'analyte. Il est possible de favoriser la cationisation de l'analyte en utilisant une matrice ayant une affinité cationique plus faible<sup>83</sup>. Dans une autre étude, les résultats montrent qu'il existe aussi une compétition entre les sels métalliques présents pour la cationisation de l'analyte<sup>84</sup>. Il appert donc que l'on peut aussi contrôler l'efficacité de la cationisation par le choix du type de cations métalliques présents en solution.

#### **2.4.2 Réaction de substitution et d'addition**

Les réactions d'addition et de substitution désignent les réactions impliquant un atome ou un groupe fonctionnel de l'analyte. Il existe une variété de réactions de substitution observée en LSIMS/FAB et de nouvelles réactions sont sans cesse observées<sup>19, 22-23</sup>. Pour ce qui est d'exemples de réaction de substitution les plus courants, mentionnons la déhalogénéation et l'échange de ligands<sup>232, 85</sup>. Il est possible de classer la réaction de cationisation décrite plus tôt comme substitution d'un proton dans l'espèce  $(M+H)^+$  par un cation métallique pour produire  $(M+C)^+$ . Cependant, on ne peut plus parler de réaction acide-base de Lewis lorsque s'effectue une substitution

de plus d'un proton, pour donner des ions du genre  $(M+2C-H)^+$  et  $(M+3C-2H)^+$  comme rapporte l'étude de la teicoplanine dans le thioglycérol<sup>85</sup>.

Une réaction de déhalogénéation courante en LSIMS/FAB, la déchloration<sup>24, 86-87</sup>, implique l'échange  $Cl \rightarrow H$ . La substitution d'un halogène est favorisée dans l'ordre suivant  $I > Br > Cl > F$  et reflète la facilité respective de la perte de ces groupements, et donc de la force du lien C-X. Pourtant, Théberge<sup>88</sup> démontre que le type d'halogène n'est pas aussi déterminant dans la déhalogénéation des composés aromatiques. En effet, le pourcentage de déhalogénéation observé pour l'atrazine, un composé chloré, est semblable aux pourcentages obtenus pour l'ester méthylique de l'iodophénylalanine. L'auteur explique ceci par la force du lien C-Cl rendu plus faible en présence du cycle triazine. Donc, il semble que dans certains cas la structure de l'entité aromatique influence le pourcentage observé de déhalogénéation.

Il a également été fait mention dans la littérature de réactions de substitution pour les espèces organométalliques et inorganiques. Miller<sup>89-90</sup> a publié une revue extensive des réactions de substitution impliquant l'échange de ligand ou d'ion métallique central dans les composés de coordination.

La formation d'agglomérats et la réaction d'addition sont communément observées dans les spectres LSIMS/FAB. Procédés similaires, ces réactions sont souvent difficiles à distinguer l'une de l'autre. En général, la formation d'agglomérats réfère à la liaison de deux ou plusieurs molécules par des liens faibles de Van der Waals ou des forces électrostatiques, alors que la réaction d'addition implique la formation de nouveaux liens covalents entre deux molécules<sup>85</sup>. Un exemple commun de réaction d'agglomération est celui du glycérol (G), qui produit sous bombardement des ions agglomérats de type  $(G_nH)^+$ , formés par des liens hydrogène. Des agglomérats mixtes de type analyte-matrice sont aussi très fréquemment observés dans les spectres LSIMS/FAB. Ces ions sont généralement d'intensité moindre que l'ion parent

mais dans le cas contraire, peuvent très bien mener à une identification erronée de l'analyte.

L'identification de pics dans les spectres LSIMS/FAB ayant une masse plus grande que le composé analysé n'est pas chose rare. Un autre exemple de réaction d'addition est l'observation par Lehmann et al. de l'ion  $(M+H+12)^+$  dans les spectres FAB des oligopeptides<sup>91</sup>. Les auteurs proposent un mécanisme où le formaldéhyde produit dans la matrice sous bombardement, s'additionne au groupe amino des oligopeptides, résultant en une déshydratation et la formation d'une base de Schiff. Un autre type de réaction d'addition a été observé par Baldwin et al.<sup>92</sup> pour la valinomycine dans le thioglycérol. L'intensité de l'ion  $(M+18)^+$  dans le spectre FAB est de beaucoup supérieure à celle de l'ion moléculaire  $(M+H)^+$ . Il s'avère que c'est l'impureté  $NH_4^+$  présente en quantité de trace dans la matrice qui est à l'origine de ce pic adduit; l'ion ammonium serait trappé dans la cavité que forme le cyclopeptide préférentiellement au proton.

### 2.4.3 Réaction d'oxydation-réduction

Les procédés de réduction sont fréquemment observés, et ce pour diverses méthodes d'ionisation telles FAB, LSIMS mais aussi CI et EI. La réduction peut se produire soit par simple transfert d'un électron (ex:  $M^{2+} \rightarrow M^+$ ), soit par une addition d'un atome d'hydrogène et d'un électron. De plus, ces procédés sont observables pour plusieurs classes de composés, dont les peptides, les nucléosides et les pigments organiques. Certains composés inorganiques ou organométalliques peuvent également se réduire.

En ce qui a trait au mécanisme du procédé de réduction en FAB, Cerny et al.<sup>14</sup> et Williams et al.<sup>93</sup> attribuent la capacité d'une molécule à se réduire à la disponibilité des orbitales inoccupées de plus basse énergie (LUMO) qui ,

en trappant des électrons, peuvent ainsi initier des réactions subséquentes. Cette définition des procédés de réduction peut bien sûr englober les réactions de déhalogénéation exposées plus tôt comme réactions de substitution, si on considère que la réaction est initiée par une capture électronique <sup>93</sup>.

Les réactions de réduction qui affectent la région de l'ion moléculaire se manifestent par des patrons isotopiques déformés. Par exemple, pour un ion moléculaire  $(M+H)^+$  qui se réduit, il y aura dans le spectre des espèces  $(M+2H)^+$  et  $(M+3H)^+$  plus intenses que ceux prévus par les isotopes lourds du composé. Les hydrogènes nécessaires proviennent semble-t-il de la matrice ou sont le produit de la décomposition des fragments de l'analyte. La présence de ces espèces réduites peut amener des complications quand il s'agit de déterminer la formule empirique d'un composé. En effet, le patron isotopique étant une sorte d'empreinte digitale caractéristique à chaque composé, il arrive qu'on y ait recourt pour pouvoir déterminer la formule empirique d'un inconnu. Dans le cas où il y a à la fois des réactions d'oxydation et de réduction qui se produisent pour un échantillon, une série de pics apparaissent autour de l'ion moléculaire. Ce phénomène est couramment observé pour les composés de haute masse ( $>1000$  u.m.a.) et l'explication semble être une réaction de dismutation de l'analyte avec lui-même <sup>85</sup>.

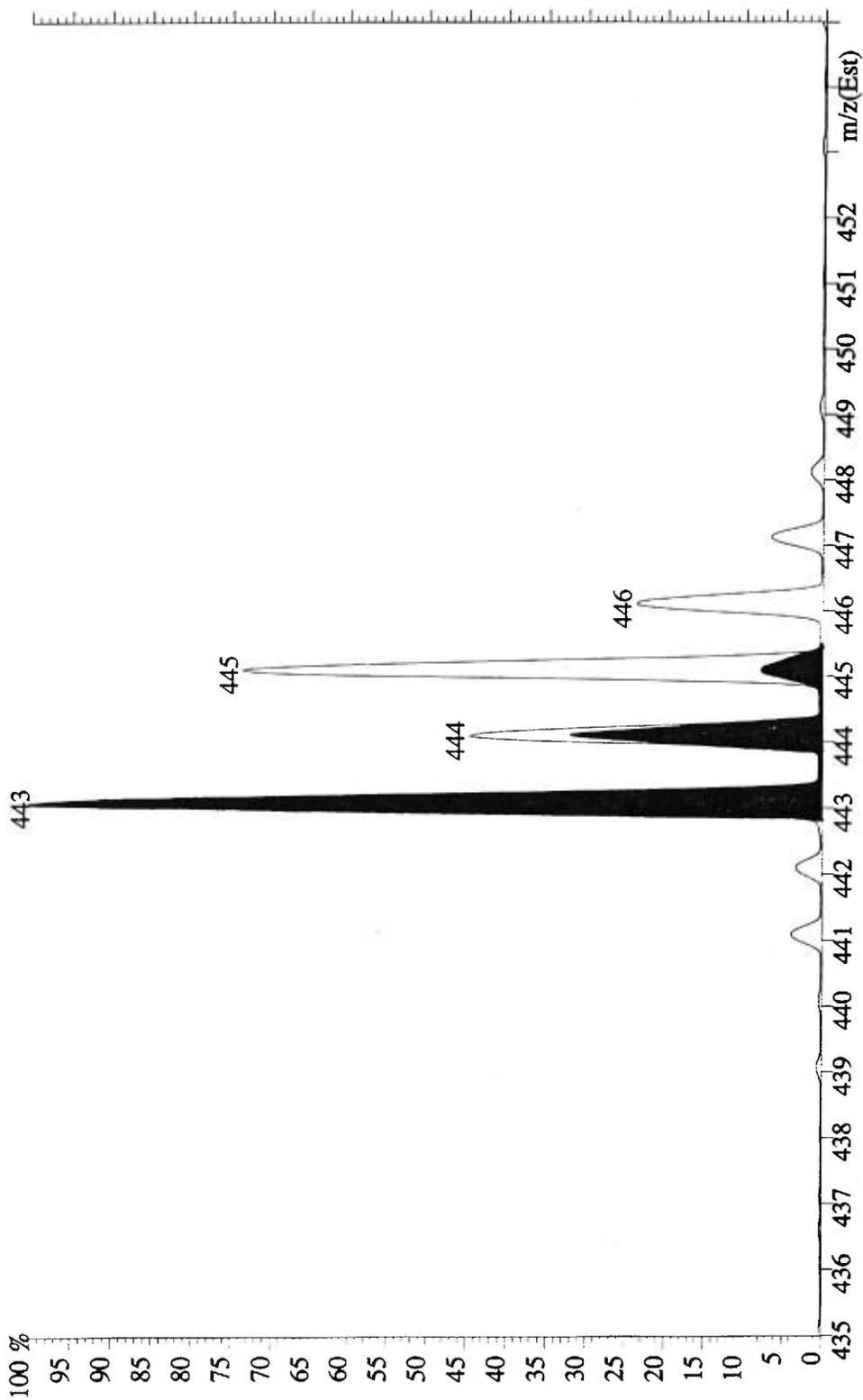
Il arrive aussi que l'on observe des ions  $(M-H)^+$  ou  $M^+$  intenses dans le spectre de composés qui devraient normalement produire un ion parent  $(M+H)^+$ . Ces ions peuvent être le résultat d'une stabilité accrue de ces espèces mais peuvent aussi découler de procédés d'oxydation, où un ou deux électrons/hydrogènes sont retranchés de l'ion moléculaire pour produire les espèces  $(M-H)^+$  et  $M^+$  respectivement. Des études ont rapporté <sup>94-95</sup> des procédés d'oxydation à un électron pour des alcools de faibles masses et pour une série de flavonoïdes. L'oxydation à deux électrons est visible dans les spectres LSIMS/FAB des éthers couronnes, des sucres dérivés et des acétals cycliques <sup>59-60, 96-97</sup>. Il semble que ces espèces radicalaires observées pour ces

systèmes se forment en surface <sup>94</sup> ou alors par interaction directe avec le faisceau de projectiles dans la phase gazeuse <sup>98</sup>. Puisque les radicaux sont capables d'agir comme intermédiaires, Clayton et al. <sup>99</sup> suggèrent un mécanisme impliquant des procédés d'ionisation, de capture électronique et d'abstraction radicalaire pour expliquer certains ions détectés dans les spectres LSIMS/FAB.

Évidemment, dans le cas où ces espèces réduites ou oxydées observées dans la région de l'ion moléculaire présentent des intensités supérieures à celle de l'ion moléculaire, il y a un risque de ne pas bien identifier un échantillon inconnu. Par exemple, la Figure 2.2 montre un spectre obtenu pour une solution glycérolique de rhodamine dans des conditions expérimentales qui favorisent une importante réduction. Le spectre de la Figure 2.2 superpose le signal obtenu expérimentalement à la signature isotopique de l'analyte en ombragé. On y remarque que le signal expérimental est excédentaire à la signature isotopique dans la région de l'ion moléculaire. Cette signature est calculée d'après l'abondance naturelle des isotopes lourds. Les masses  $m/z$  443,  $m/z$  444 et  $m/z$  445 sont respectivement l'ion moléculaire ( $M^+$ ) et les contributions isotopiques de celui-ci  $((M+1)^+$  et  $(M+2)^+$ ).

## **2.5 Paramètres expérimentaux affectant la réduction apparente en LSIMS/FAB.**

La réduction affectant la région de l'ion moléculaire étant relativement bien étudiée, il a été constaté rapidement que ce procédé pouvait être influencé de manière significative par divers paramètres expérimentaux. Ceux-ci peuvent être classés en deux catégories; les paramètres physiques qui caractérisent le faisceau bombardant et les paramètres chimiques spécifiques à la solution irradiée.



N.B.: la région ombragée représente la signature isotopique théorique de l'analyte

**Figure 2.2 : Spectre d'une solution glycérolique de rhodamine montrant un degré de réduction apparent important (0,005M, 1,5  $\mu$ A, 14 keV).**

### 2.5.1 Paramètres physiques

#### a) Temps d'irradiation

Il semble que les procédés de réduction soient sensibles aux temps d'irradiation de la solution. En effet, quelques études soulignent une augmentation graduelle des espèces réduites dans les spectres<sup>36, 48, 50, 59,86, 100-102</sup>. Cette dépendance des procédés de réduction au temps témoigne d'un procédé se produisant dans la phase condensée, puisqu'il est difficile de s'expliquer un effet de temps lorsque c'est une chimie en phase gazeuse qui est en cause. Mais les études proposent diverses raisons pour ce phénomène. Par exemple Santana-Marques<sup>50</sup> postule que c'est un phénomène physique qui est à l'origine de la dépendance de temps des espèces réduites des oximes dans le glycérol en FAB. L'auteur observe que l'abondance des espèces réduites augmente graduellement pour finalement atteindre un plateau et déduit que le transport vers la surface de l'analyte est l'étape déterminante. Cette hypothèse est corroborée par l'ajout de surfactant à ces solutions qui élimine la variation avec le temps des intensités relatives. L'ajout de surfactant cause un enrichissement de la surface en analyte, et donc, résulte en l'établissement du plateau plus rapidement. Florêncio<sup>101</sup> observe également que l'ajout d'une substance surfactante élimine l'effet de temps et produit un courant ionique stable pour une solution glycérolique de rouge de méthyle en FAB.

D'autres études interprètent plutôt cet effet de temps comme étant le reflet d'une réaction chimique en solution initiée par l'accumulation avec le temps des espèces réduites formées par le bombardement. Wirth<sup>100</sup> note que le rapport  $(M+3H)^+/(M+H)^+$  pour des azo-peptides dans le glycérol augmente avec le temps. La solution demeurée sur la cible après bombardement est décolorée, témoignant de la présence de l'espèce réduite en solution.

L'auteur déduit que cette dépendance de temps de la réduction découle effectivement d'une réaction chimique en solution, et non pas d'une modification de la composition de la surface. Dans une autre étude, Paul et al.<sup>59</sup> observent que l'intensité relative des ions (M-D)<sup>+</sup> pour des acétals deutérés cycliques varie avec le temps d'irradiation. Les auteurs proposent que c'est l'accumulation en solution d'espèces réactives induites par le bombardement qui mène éventuellement à un accroissement de la vitesse de formation des espèces (M-D)<sup>+</sup>. L'étude de la déhalogénéation de la chlorpromazine en mode FAB statique et en mode continu<sup>86</sup> corrobore l'hypothèse d'une accumulation en solution des espèces réactives; en effet, l'auteur observe une dépendance des espèces déhalogénées avec le temps seulement dans le mode statique. Un échantillon exposé au faisceau pendant une minute, est réanalysé après dix minutes sans exposition à l'irradiation; le degré de déhalogénéation a alors subi une hausse considérable, prouvant l'accumulation en phase condensée des espèces réduites.

#### b) Densité du faisceau bombardant

La densité du faisceau d'ions primaires est définie par le nombre de projectiles qui touchent la cible par unité de temps et de surface. Todd<sup>61</sup> démontre que le courant ionique varie de manière linéaire avec l'augmentation de la densité du faisceau. Plusieurs études<sup>33-34, 40, 87,103</sup> ont aussi démontré que la densité du faisceau pouvait avoir une influence significative sur l'intensité des espèces réduites observées dans les spectres. Si on suppose que ce sont des espèces réactives produites sous bombardement qui initient les réactions rédox, il est cohérent qu'une augmentation de la concentration des projectiles frappant la cible mène à une augmentation d'espèces réduites.

Reynolds<sup>40</sup> démontre dans son étude des paramètres expérimentaux en FAB, que le bleu de méthylène est d'autant plus réduit que la densité du

faisceau est élevée. Les études sur la réduction des peptides de Visentini et al.<sup>33-34</sup> démontrent que la variation de la densité du faisceau bombardant a un effet significatif sur les procédés réels de réduction.

Busch et al.<sup>103</sup> démontrent que la variation instantanée de la densité du faisceau mène à une réduction parallèle du pigment oxazine; le degré de réduction diminue de façon instantanée lorsque l'on diminue la densité du faisceau. Les auteurs en déduisent que la réduction se produit en surface.

### c) Énergie du faisceau bombardant

Une augmentation du voltage d'extraction augmente l'énergie des ions  $\text{Cs}^+$ , c'est-à-dire la vitesse à laquelle les projectiles frappent la cible. Kazakoff et al.<sup>35</sup> notent que l'effet de concentration observé pour le rapport  $(A+1)/A$  (rapport du premier pic isotopique  $(A+1)$  sur le pic de l'ion moléculaire  $(A)$ ), de sels pyridinium disparaît lorsque l'énergie du faisceau passe de 9 à 5 keV. Cependant Bertrand et al.<sup>33</sup> rapportent que la réduction d'une variété de peptides montre une dépendance de la concentration de l'analyte, quelle que soit l'énergie des projectiles. L'étude de Kazakoff a été effectuée en FAB et on sait que la variation de l'énergie du faisceau bombardant peut mener à une défocalisation du faisceau, et donc à une variation de la densité de celui-ci. Il est possible que la tendance observée par l'auteur soit en fait plutôt due à une variation de la densité du faisceau. Il ne faut pas oublier aussi que les tendances observées considèrent les procédés apparents, et donc, découlent d'un signal convolué aux signaux des espèces réduites et de leur signature isotopique et du signal de fond. Reynolds et Cook<sup>40</sup> démontrent que le degré de réduction du bleu de méthylène est moindre lorsque l'énergie du faisceau est augmentée. Cependant ils notent que de diminuer de moitié la densité du faisceau est plus efficace pour inhiber la réduction que de doubler l'énergie. Une augmentation de la densité du faisceau cause une augmentation substantielle de la réduction, alors que l'influence de l'énergie sur le degré de

réduction est moins importante aux énergies supérieures à 5 keV. Donc pour les systèmes aisément réduits, les auteurs proposent de réduire la densité du faisceau plutôt que d'augmenter son énergie.

### 2.5.2 Paramètres chimiques

#### a) Structure de l'analyte

Le fait que certaines classes de composés, comme les teintures organiques ou les peptides, se réduisent lorsque soumis au bombardement en LSIMS/FAB suggère que la structure de l'analyte est un facteur important dans la formation d'espèces réduites<sup>17, 37, 104</sup>. Par exemple, Musselman et al.<sup>105</sup> notent que le degré de réduction observé en FAB pour une série de peptides varie de l'un à l'autre, ce qui semble impliquer les caractéristiques structurales dans ce procédé. Visentini et al.<sup>106</sup> ont par ailleurs démontré que la tendance des peptides à être réduits dépend de la présence de groupes fonctionnels aisément réduits dans l'ordre suivant : liens S-S > noyau aromatique > groupe carbonyle. Une analyse plus poussée par l'auteur établit une relation linéaire entre le degré de réduction à deux électrons et le nombre de sites insaturés présents dans la molécule pour une série de peptides<sup>41</sup>.

Plusieurs études établissent une relation linéaire entre le potentiel de réduction  $E_{1/2}$  de l'analyte et la réduction induite par le bombardement en LSIMS/FAB<sup>17, 35, 37, 39</sup>. Cependant, Kazakoff et al.<sup>35</sup> observent que la réduction observée pour les sels de pyridinium est indépendante de leur potentiel de réduction à des valeurs plus négatives que -0.4V. De manière similaire, Reynolds et al.<sup>40</sup> tentent de vérifier la relation linéaire mentionnée dans la littérature, entre  $E^\circ$  et le degré de réduction observé en FAB pour une série de teintures organiques. En supposant que les tendances de réduction sont semblables en milieu aqueux et dans le glycérol, que les intensités observées pour les espèces réduites sont proportionnelles à leur concentration dans la

solution et que le système en FAB obéit à la loi de Nernst, les auteurs prévoient une relation linéaire entre  $E^\circ$  et  $\ln[I_{red}/I_{ox}]$ . Or, il s'avère que la relation est non linéaire, et ce, pour les deux espèces réduites. Par contre, les auteurs ne tiennent pas compte du fait que le glycérol possède une viscosité supérieure à celle de l'eau. Comme les coefficients de diffusion jouent un rôle important en voltamétrie, il est difficile d'affirmer que l'activité de réduction d'un analyte serait la même d'un solvant à l'autre.

Comme vu plus haut, on doit être prudent lorsque l'on tente d'établir un lien entre le potentiel de réduction  $E_{1/2}$  et le degré de réduction observé dans les spectres LSIMS/FAB. Ceci découle du fait que le mécanisme responsable de la réduction en LSIMS/FAB est encore en grande partie indéterminé. En effet, on ne connaît pas encore avec certitude l'identité des espèces responsables de ce procédé; par exemple, le bleu de méthylène peut être réduit par plusieurs espèces générées sous le bombardement<sup>107-108</sup> comme les électrons, les atomes d'hydrogène ou autres espèces radicalaires réductrices.

#### b) Concentration de l'analyte

Intuitivement, on peut prévoir que l'intensité du signal sera liée à la concentration de l'analyte en solution. Ce paramètre expérimental influence également le degré de réduction en LSIMS/FAB, puisque plusieurs publications observent une relation inverse entre l'intensité des espèces réduites observées et la concentration de l'analyte<sup>33-36, 48</sup>. Mais peu d'études jusqu'à maintenant ont considéré l'influence de ce paramètre, et de ce fait, peu d'études exposent ou tentent de d'expliquer le rôle que joue la concentration dans le procédé de réduction.

#### c) Nature de la matrice

Quoique plusieurs paramètres expérimentaux influencent la réduction apparente observée dans la région de l'ion moléculaire, ils n'ont pas tous le

même degré d'influence sur ce procédé. Ainsi, il semble que ce soit le choix de la matrice qui a le plus d'influence sur la présence d'espèces réduites dans le spectre, et ce pour un grand nombre de réactions dites de réduction, telles la déhalogénéation<sup>88</sup>.

Dans une des études traitant de la réduction observée dans les spectres LSIMS/FAB, Cerny et al.<sup>14</sup> observent pour une série de nucléotides analysés dans le glycérol des pics  $(M+2H)^+$  et  $(M+3H)^+$  plus intenses que prévu par le calcul des isotopes lourds. Dans une autre étude<sup>109</sup>, il a été possible de supprimer la réduction observée en LSIMS/FAB pour des solutions glycéroliques en substituant le 2-nitrophényloxyoctane comme matrice. Un autre exemple du rôle que joue la matrice dans la réduction observée, est celui de la benzoquinone dissoute dans le glycérol, où il se produit une capture électronique par l'analyte, suivie d'une abstraction de H<sup>•</sup> par la matrice pour donner l'anion semiquinone<sup>99</sup>.

En ce qui concerne la réduction des pigments organiques et le rôle que joue la matrice dans ce procédé, il existe une controverse dans la littérature, à savoir si ce procédé est inhérent à l'usage d'une matrice liquide ou s'il en est indépendant. Il semble que les résultats soient contradictoires, avec des données de part et d'autre. Par exemple, Cooper et al.<sup>110</sup> sont les premiers à rapporter la dépendance de la réduction observée en FAB à la nature de la matrice utilisée. L'étude de Gale et al.<sup>37</sup> quant à elle, démontre que la présence d'une matrice liquide a un effet direct sur la réduction des pigments organiques. En comparant les spectres LSIMS et PD (bombardement par des produits de fission de l'élément <sup>252</sup>Cf, sans matrice) pour six pigments organiques, les auteurs observent que les spectres sont similaires du point de vue de la fragmentation mais différent de celui de la réduction. En effet, les spectres PD ne montrent pas de réduction significative, ce qui semble encore confirmer le rôle que tient la matrice dans ces procédés de réduction. Quoiqu'ils ne présentent pas le mécanisme responsable de la réduction, les

auteurs avancent que la matrice pourrait jouer un rôle en produisant des espèces radicalaires qui facilitent la réduction. De plus, ils établissent une relation entre le potentiel de réduction polarographique ( $E_{1/2}$ ) de ces teintures et la réduction qu'elles subissent. Enfin ils avancent que l'on doit réunir deux conditions pour observer la réduction des pigments organiques: le procédé doit être énergétiquement favorable et un agent réducteur doit être présent. Kyranos<sup>39</sup> appuie l'hypothèse du groupe de Gale quant au rôle que joue la matrice dans les procédés de réduction; il montre que le spectre FAB du bleu de méthylène obtenu sans matrice sur une courroie interface de polyimide d'un système LC/MS présente une signature isotopique conforme à celle prévue par la formule empirique de l'analyte.

Dans une étude indépendante, Pelzer et al.<sup>17</sup> avancent que la réduction induite par le bombardement en FAB découle plutôt d'un équilibre rédox simple entre les atomes d'hydrogène provenant du glycérol bombardé et des espèces oxydées présentes en solution. La facilité avec laquelle l'espèce réduite observée est produite semble encore ici reliée au  $E_{1/2}$  de l'analyte. De plus, se rapportant à un spectre SIMS<sup>111</sup> obtenu pour le bleu de méthylène solide qui ne démontre pas de réduction significative en l'absence de matrice, Pelzer affirme que de fortes évidences indiquent que le procédé de réduction prend place en phase liquide.

Mais d'autres études semblent plutôt indiquer que la réduction n'est pas tributaire de la matrice. En effet, Burinsky et al.<sup>13</sup> présentent une étude de la réduction du bleu de méthylène sous diverses méthodes d'ionisation: EI, FAB, LSIMS, SIMS, CI. Dans tous les spectres produits, les auteurs observent la réduction de l'analyte, et ce même pour les techniques qui n'emploient pas de matrice comme EI et SIMS. Ils avancent donc que la matrice n'est pas essentielle dans le mécanisme de réduction. Les auteurs commentent également sur les résultats obtenus pour la réduction de pigments organiques analysés à l'aide de glycérol deutéré<sup>49</sup>; ils avancent que ces résultats reflètent

la facilité avec laquelle s'effectue l'échange proton-deutérium plutôt que d'impliquer la matrice dans le procédé de réduction. Ils suggèrent que la réduction pourrait être un procédé photo-induit, i.e. initié par les radiations de hautes énergies émises par les filaments ou les décharges qui prennent place dans les chambres d'ionisation.

Cette hypothèse est contredite par l'étude publiée par Kazakoff et al.<sup>112</sup>, qui rapportent qu'effectivement, des rayons-X sont produits dans la chambre d'ionisation d'une source FAB, mais que ceux-ci jouent un rôle non-significatif dans l'apparence du spectre du bleu de méthylène. Ces mêmes auteurs<sup>35</sup> rapportent dans une autre étude que le bleu de méthylène sans matrice ne se réduit pas. Cependant, la même expérience avec des sels de pyridinium démontre qu'en l'absence de matrice, la réduction est suffisamment présente pour confirmer que les procédés de réduction peuvent dans certains cas se produire sans matrice. Les auteurs proposent que la réduction de l'analyte est plutôt fonction de la concentration de l'analyte et de l'énergie du faisceau bombardant plutôt que reliée à la matrice.

Pourtant, il est difficile de nier l'importance que joue la matrice dans les procédés de réduction lorsque l'on prend connaissance de toutes les études qui démontrent la forte corrélation entre le degré de réduction et la *nature* de la matrice. Par exemple, le glycérol est uniformément reconnu comme la matrice dans laquelle il se produit le plus de procédés de réduction, non seulement l'hydrogénation multiple de l'ion moléculaire, mais aussi les autres procédés dits de réduction tels la déhalogénéation<sup>88, 113</sup>, la transformation d'un groupe  $\text{RN}_3 \rightarrow \text{RNH}_2$ <sup>19</sup> et la substitution  $\text{NO}_2 \rightarrow \text{H}^{23}$ , qui sont prédominants dans la matrice de glycérol mais presque totalement absents à l'emploi de l'alcool méta-nitrobenzylique comme matrice. Puisque l'on peut aisément contrôler le degré de réduction observé dans le spectre par le choix approprié de la matrice, on peut supposer que ces procédés de réduction se produisent majoritairement dans la phase condensée.

#### d) Activité de surface

Il appert que la distribution de l'analyte dans la gouttelette pourrait influencer le degré de réduction observé dans les spectres LSIMS/FAB. En peuplant artificiellement la surface à l'aide de surfactant, quelques études ont noté une faible augmentation du degré de réduction<sup>50, 101</sup>. Une autre étude<sup>114</sup> révèle que le degré de déhalogénéation pour une série d'analogues ayant une activité de surface différente, est plus important pour les composés plus tensio-actifs.

### **2.6 Méthodes d'évaluations des procédés rédox apparents**

Malgré la littérature abondante portant sur la réduction affectant la région de l'ion moléculaire, il s'y trouve une lacune quant à une étude systématique et rigoureuse des conditions expérimentales qui influencent ce procédé. En effet, il est courant de ne pas trouver des indications sur les divers paramètres choisis pour une étude, ce qui rend la comparaison difficile et la reproduction des conditions expérimentales parfois impossible. S'ajoute à ceci l'absence d'un traitement quantitatif des ions qui subissent les réactions rédox. Plusieurs méthodes d'évaluation de ces procédés mènent à une mauvaise identification des tendances qui régissent ces procédés, et sont donc inadéquates. En effet, le signal de la région de l'ion moléculaire est en fait une enveloppe qui découle de plusieurs contributions: le signal de fond, provenant d'une dégradation chimique causée par le bombardement de l'analyte, de la matrice ou d'espèces combinées analyte-matrice, le signal provenant de la signature isotopique de l'analyte et le signal des espèces oxydées ou réduites accompagnés de leur signature isotopique correspondante. Ces signaux respectifs sont difficiles, sinon impossible à isoler. Les méthodes d'évaluation qui existent dans la littérature déterminent les procédés de réduction apparents plutôt que les procédés réels, en ignorant

le signal de fond et les contributions isotopiques des procédés rédox qui affectent la région de l'ion moléculaire.

Par exemple, Kyranos et al.<sup>39</sup> attribuent à une incorporation d'atomes d'hydrogène tout signal excédentaire à la signature isotopique naturelle de l'ion moléculaire, et donc énoncent que le signal en excès détermine le degré de réduction. Une autre méthode d'évaluation des procédés de réduction consiste à calculer un ratio d'accroissement ("enhancement ratio" = ER) défini comme le rapport entre les valeurs observées et les valeurs prévues par les calculs d'abondance isotopique naturelle<sup>35</sup>. Reynolds<sup>40</sup> évalue quant à lui, les procédés de réduction en calculant un facteur d'accroissement ( $E_q$ ) qui est défini par l'équation suivante :

$$E_q = \frac{i_m - i_c}{i_c}$$

où " $i_m$ " correspond à l'intensité de l'ion réduit mesuré et " $i_c$ " est la contribution isotopique de l'ion moléculaire à cette masse .

La détermination des procédés réels de réduction n'est pas une tâche triviale. En effet, il ne suffit pas d'enlever par traitement informatique, le signal de fond, et il est surprenant que cette contribution au signal de la région de l'ion moléculaire n'ait pas reçu d'attention jusqu'à tout récemment<sup>18, 33, 40</sup>. Afin d'obtenir les contributions des procédés rédox réels qui affectent la région de l'ion moléculaire, on doit procéder à une déconvolution des intensités des pics observés dans cette région.

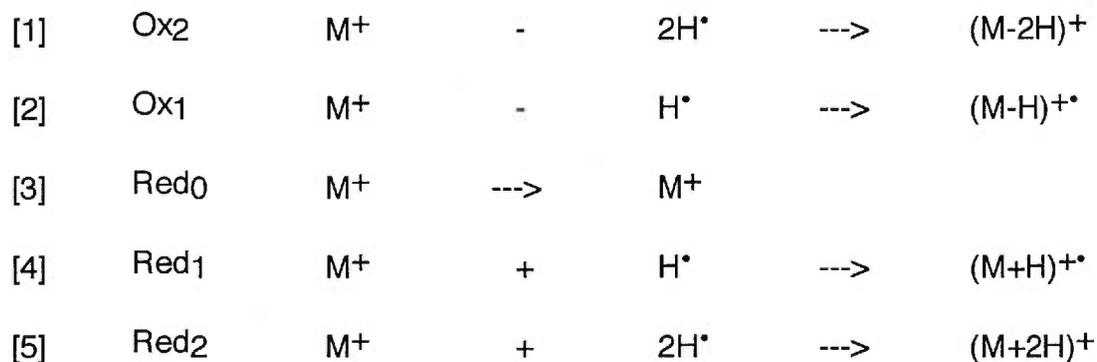
### 2.6.1 SIMBROC: son emploi et sa nécessité

Il existe dans la littérature des exemples de procédures de déconvolution<sup>115-116</sup> mais celles-ci sont sensibles aux erreurs amenées par les interférences chimiques parce qu'elles n'apportent qu'une seule solution

possible; il est donc probable que cette solution, quoique mathématiquement correcte soit physiquement non significative. De plus, ces méthodes ne considèrent pas la contribution du signal de fond, qui peut parfois être non négligeable. Vékey<sup>18</sup> a postulé qu'on pouvait obtenir manuellement un spectre "monoisotopique" en soustrayant le signal de fond directement des intensités des pics de la région de l'ion moléculaire. Ce spectre monoisotopique est en fait une représentation exclusive des isotopes les plus légers des espèces avec des nombres variables d'atomes d'hydrogène. L'auteur affirme que cette distribution des produits réduits/oxydés relative à l'ion moléculaire est une représentation réelle des procédés rédox. Cependant, cette méthode considère un signal de fond constant d'un spectre à l'autre et son intensité est déterminée par la valeur moyenne des plus petits pics du signal de fond qui entourent la région à l'étude. Le choix des pics est plutôt subjectif et un signal de fond qui n'est pas toujours uniforme peut être source d'erreur pour cette méthode, causant ainsi une mauvaise évaluation des procédés rédox. Le signal de fond peut en effet dépendre du temps d'irradiation, de la densité du faisceau primaire, de la structure de l'analyte ou de la matrice. En attribuant une valeur fixe au signal de fond, on perd la flexibilité qui pourrait être requise pour la maximisation des variables qui représentent les procédés rédox.

Afin de déterminer les procédés réels de réduction affectant la région de l'ion moléculaire, un modèle mathématique simple simulant les données expérimentales a été récemment développé dans le cadre des études doctorales du Dr. Visentini<sup>41</sup> et fut le sujet de quelques publications<sup>33-34, 42-47, 118-119</sup>. Ce dernier est en mesure de déterminer les valeurs réelles plutôt qu'apparentes des procédés rédox qui affectent la région de l'ion moléculaire sous diverses conditions expérimentales. La capacité de ce programme à donner des résultats mathématiquement corrects et physiquement significatifs a été le sujet d'étude de plusieurs publications<sup>33-34, 42-47</sup>.

Le programme de déconvolution SIMBROC (Simulated Background and Reduction-Oxidation Calculations) permet d'isoler adéquatement les contributions distinctes qui constituent les pics de la région de l'ion moléculaire. *On peut alors obtenir les divers procédés rédox réels (oxydation à un et deux électrons et réduction à un et deux électrons) isolés les uns des autres.* L'algorithme sur lequel SIMBROC est basé stipule que chaque procédé rédox qui affecte la distribution isotopique de l'ion moléculaire doit être accompagné par un transfert d'hydrogène. Pour un système chimique chargé ( $M^+$ ) avant le bombardement, comme c'est le cas pour nos pigments organiques qui sont des sels d'amine quaternaire, les procédés rédox peuvent être définis tel que:



Les symboles **Red** et **Ox** dans ces équations désignent les procédés de réduction et d'oxydation respectivement, alors que les indices indiquent le nombre d'électrons/hydrogène échangés dans le procédé. Donc, selon cette nomenclature, **Red<sub>0</sub>** réfère à la proportion de l'ion parent n'ayant subi ni réduction ni oxydation et **Red<sub>1</sub>**, au premier procédé de réduction. Il faut cependant garder à l'esprit que ces équations ne font qu'illustrer le produit des réactions rédox, et ne se veulent pas un schéma mécanistique menant à la formation de ces espèces rédox. En effet, la réduction à un électron  $(M+H)^{+\bullet}$

peut se produire par un échange d'hydrogène ( $H^*$ ) tout comme elle peut se produire par transfert électronique suivi par une protonation ( $H^+ + e^-$ ). Cependant ces deux mécanismes mènent à la formation de la même espèce  $(M+H)^+$ , qui sera détectée à la même masse, quel que soit le mécanisme impliqué. Le modèle mathématique sur lequel repose SIMBROC est le suivant:

$$[6] I_3 = \text{Back}_2$$

$$[7] I_2 = \text{Ox}_2 + \text{Back}_1$$

$$[8] I_1 = A_1 * \text{Ox}_2 + \text{Ox}_1 + \text{Back}_2$$

$$[9] I_0 = A_2 * \text{Ox}_2 + A_1 * \text{Ox}_1 + \text{Red}_0 + \text{Back}_1$$

$$[10] I_1 = A_3 * \text{Ox}_2 + A_2 * \text{Ox}_1 + A_1 * \text{Red}_0 + \text{Red}_1 + \text{Back}_2$$

$$[11] I_2 = A_4 * \text{Ox}_2 + A_3 * \text{Ox}_1 + A_2 * \text{Red}_0 + A_1 * \text{Red}_1 + \text{Red}_2 + \text{Back}_1$$

$$[12] I_3 = A_4 * \text{Ox}_1 + A_3 * \text{Red}_0 + A_2 * \text{Red}_1 + A_1 * \text{Red}_2 + \text{Back}_2$$

$$[13] I_4 = A_4 * \text{Red}_0 + A_3 * \text{Red}_1 + A_2 * \text{Red}_2 + \text{Back}_1$$

Les variables  $I_x$  représentent les intensités des pics observés expérimentalement, où l'indice  $x$  dénote la position de ce pic dans l'agglomérat de l'ion moléculaire versus l'ion parent pour lequel  $x = 0$ . Ces pics  $I_x$  contiennent les contributions des signatures isotopiques naturelles individuelles, du signal de fond et des espèces réduites/oxydées telles que décrites par les équations ci haut. Les contributions isotopiques sont représentées par les symboles  $A_n$ , alors que le symbole **Back** représente le signal de fond dans la région de l'agglomérat de l'ion moléculaire. Le modèle est rendu flexible par la présence de deux variables pour définir le signal de fond, ce qui permet une évaluation plus exacte de celui-ci. Par exemple, un signal de fond constant sera caractérisé par une convergence entre **Back**<sub>1</sub> et **Back**<sub>2</sub>, alors que deux valeurs moyennes seront attribuées à **Back**<sub>1</sub> et **Back**<sub>2</sub> pour un signal de fond modulé.

L'approche informatique consiste à résoudre simultanément le système des sept équations ([6] à [13]) linéaires présentées ci haut par déconvolution, afin d'obtenir la contribution individuelle de chacun des signaux qui composent les pics de l'agglomérat de la région de l'ion moléculaire. La méthode d'optimisation du programme SIMBROC débute par l'attribution de la même valeur aux deux variables  $Back_1$  et  $Back_2$ <sup>34</sup>. Après l'obtention de la solution exacte aux équations [6] à [13], le programme optimise ensuite les résultats en utilisant des valeurs indépendantes pour les deux variables  $Back_1$  et  $Back_2$ . Les procédés ([1] à [5]), calculés par SIMBROC, sont présentés sous forme de pourcentage, où la somme de tous les procédés totalise 100%. Une fois ces contributions isolées, on peut alors étudier l'effet des paramètres expérimentaux sur celles-ci. En évaluant les abondances des diverses espèces rédox sous les conditions LSIMS/FAB, on est alors en mesure de proposer un ou des mécanismes qui expliquent ces procédés.

## 2.7 Choix du système à l'étude

Une fois l'outil adéquat disponible (SIMBROC) pour l'étude de la réduction et de l'oxydation, on devait choisir un système chimique pertinent à l'étude de ces procédés. C'est la classe des pigments organiques qui a retenu notre attention, plus particulièrement le bleu de méthylène, le cristal violet et la rhodamine.

Plusieurs facteurs ont motivé notre choix des pigments organiques comme système à l'étude. Premièrement, étant des composés qui se réduisent assez significativement sous bombardement LSIMS/FAB, ils sont le sujet de plusieurs études charnières dans la chimie de la réduction<sup>13, 17, 35-40, 102, 117</sup>. En choisissant ces composés, on pouvait donc facilement comparer les procédés que nous avons obtenus par déconvolution à ceux publiés dans la littérature.

Cette classe de pigments organiques, souvent utilisés comme indicateurs, est aussi le sujet de plusieurs publications dans d'autres champs d'études, comme la cinétique ou la radiolyse, ce qui peut être avantageux comme nous allons voir plus loin. Parce qu'ils sont peu coûteux, ils sont aisément disponibles. Ils sont non toxiques, se dissolvent aisément et sont relativement stables. Étant des cations, une bonne sensibilité aux faibles concentrations est assurée. Ces analytes présentent des similitudes structurales (i.e. amine quaternaire aromatique) se fragmentent peu et donnent un patron de fragmentation reproductible et aisément élucidé sous toutes les conditions expérimentales que nous avons étudiées. Présentant des structures simples, la masse respective de nos composés est peu élevée (< 500 u.m.a.) et nécessite donc une résolution minimum facile à obtenir.

Cette simplicité dans la structure en fait un système idéal pour la première ébauche d'un mécanisme de réduction induite par le faisceau. Finalement, parce que ces analytes sont des sels, donc préchargés en solution, on s'assure que les signaux excédentaires donnant lieu à un patron isotopique déformé de la région de l'ion moléculaire proviennent des procédés rédox, et non pas d'espèces plus stables formées par le procédé d'ionisation.

On doit enfin souligner que les procédés de réduction étant beaucoup plus notoires que les procédés d'oxydation pour ces pigments, la présente thèse portera surtout sur la réduction.

## **CHAPITRE 3**

### **PROCÉDURE EXPÉRIMENTALE**

### 3.1 Instrumentation

Toutes les données acquises dans cette étude ont été obtenues avec le spectromètre de masse hybride "Autospec-Q" (VG Analytical, Manchester, Angleterre) disponible au Centre Régional de Spectrométrie de Masse de l'Université de Montréal. La configuration de l'appareil, présentée dans la Figure 3.1, consiste en trois secteurs, soit deux électrostatiques et un magnétique, ainsi que deux analyseurs quadrupolaires. La géométrie réalisée est de type EBEqQ quoique seuls les trois premiers secteurs (EBE) furent utilisés dans notre cas. La détection par un multiplicateur d'électrons se produit après le second secteur électrostatique. Cet instrument possède une échelle de masse de 3000 u.m.a. pour un voltage d'accélération de 8kV. Pour tous les résultats obtenus dans cette étude, la résolution est établie à un minimum de 1000, définie pour une vallée de 10% de la hauteur de deux pics d'intensité égale. Notons qu'à cette résolution, chaque pic de la région de l'ion moléculaire est en fait une enveloppe des contributions isotopiques présentes à cette masse.

Deux modes de balayage sont employés. Tout d'abord, les spectres de masse sont obtenus de manière conventionnelle en balayant le secteur magnétique en mode positif, avec une vitesse de balayage de 10 s/décade. Ce type de spectre nous informe sur l'aspect global du signal généré par l'aliquot, grâce à la présence d'ions fragments, de l'ion moléculaire caractéristique de l'analyte, ainsi que du signal correspondant à la matrice employée. De plus, il est possible d'observer des ions agglomérats matrice-analyte. Le deuxième type de spectre de masse est obtenu en utilisant un balayage du voltage d'accélération (V-scan) sur une échelle de masse restreinte, soit la région de l'ion moléculaire. Les V-scans sont utilisés parce que plus reproductibles que les balayages de l'aimant pour l'acquisition à multi-canaux (MCA). Le balayage s'effectue en accumulant le signal de 3

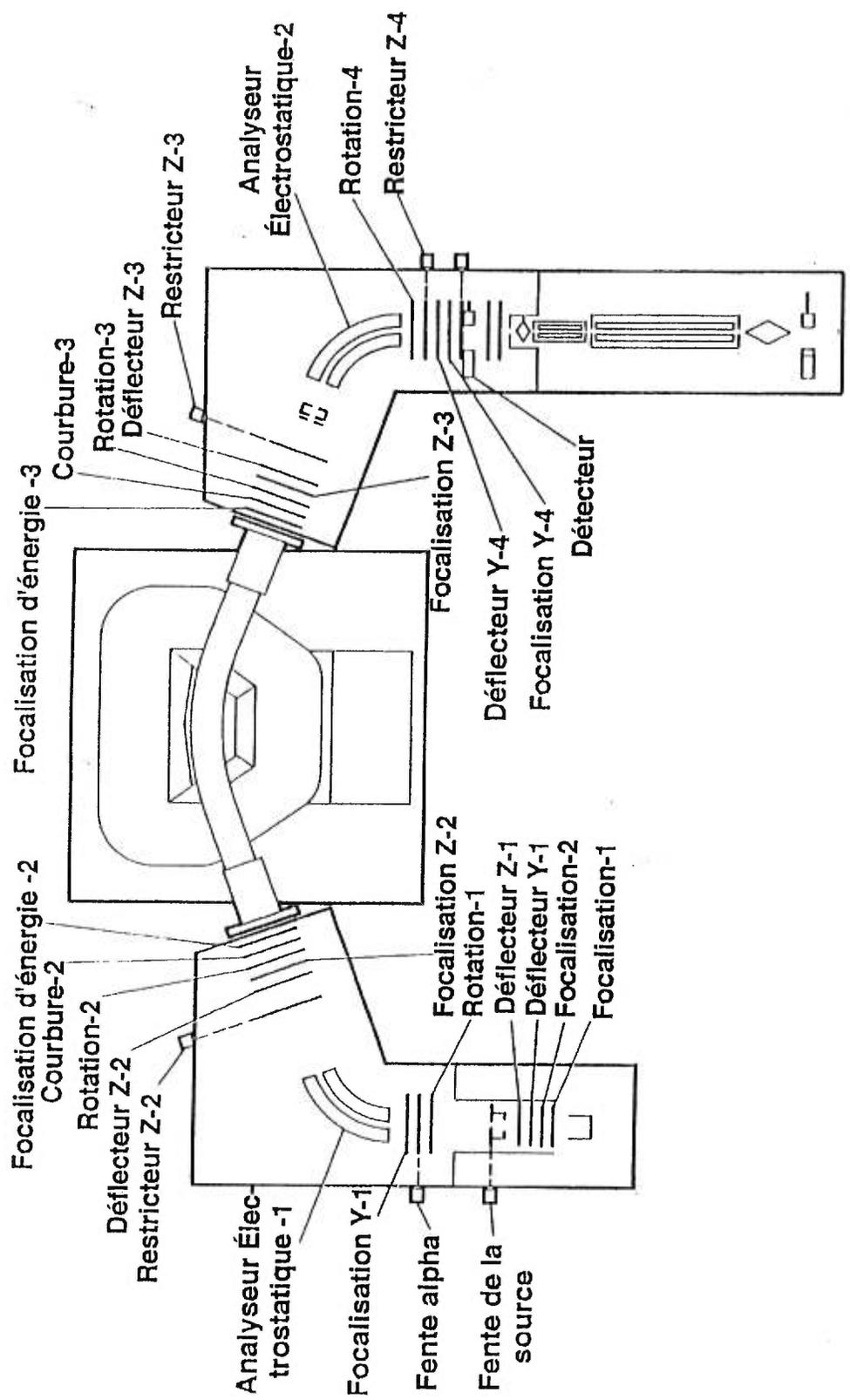


Figure 3.1: Schéma du spectromètre de masse Autospec-Q

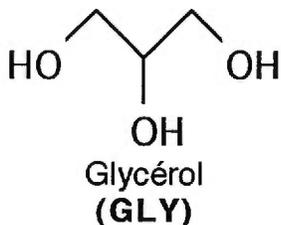
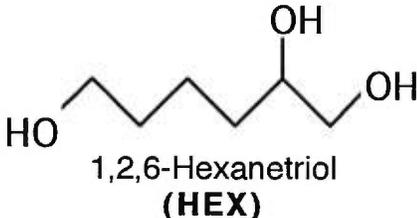
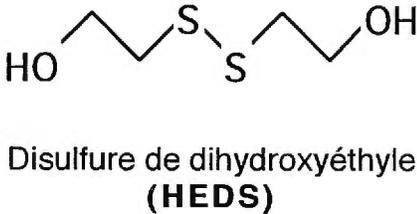
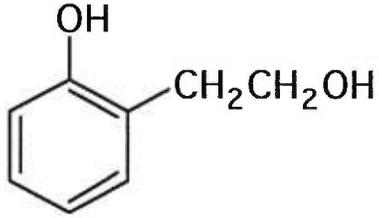
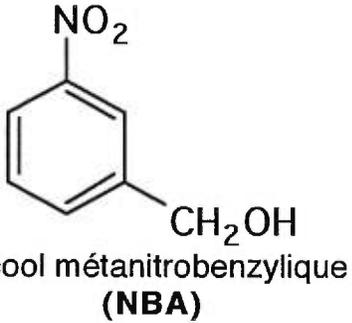
spectres à toutes les 5 secondes environ (3 balayages à 1.5 seconde/balayage). Puisque le balayage s'effectue sur une gamme de masse plus restreinte (20 unités de masse, 0.075 sec/u.m.a.), la précision des abondances relatives est augmentée par rapport à un balayage de l'aimant conventionnel sur une échelle de 10 à 1000 m/z (990 unités de masse, 0.02 sec/u.m.a.). Le temps d'analyse total est d'environ 3 minutes à moins d'avis contraire.

La désorption par bombardement d'ions primaires se fait à l'aide de la source LSIMS standard dont l'appareil "Autospec-Q" est équipé. La sonde où est déposé l'aliquot est en acier inoxydable, de dimension 2.65 mm par 2.65 mm (7.0mm<sup>2</sup>). C'est un canon d'ions césium à énergie variable (0-50 keV) (VG Analytical) qui génère le faisceau d'ions primaires nécessaire au bombardement. La production des ions est accomplie en chauffant une pastille d'un alliage de tungstène poreux enrichi de césium. Le courant d'ions qui quitte le canon est mesuré avec un ampèremètre (0-20µA). Bertrand et al.<sup>33</sup> ont rapporté la relation linéaire qui existe entre l'émission nominale du courant et la densité du faisceau qui atteint la cible; donc dans cette étude nous ne rapporterons que le courant d'émission lu sur l'instrument.

### **3.2 Préparation des échantillons**

Le Tableau 3.2 présente les matrices employées au cours de l'étude, qui sont classées en trois groupes. Les matrices aliphatiques composent la classe I, les matrices aliphatiques soufrées composent la classe II et finalement la classe III est formé des matrices aromatiques. Nous reviendrons dans les chapitres ultérieurs sur la signification de ce classement sur les résultats expérimentaux. Tous les composés utilisés sont obtenus de la compagnie Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI). Les pigments organiques présentent, d'après le fabricant, une pureté de 87%, 90% et 98% respectivement pour le bleu de méthylène, la rhodamine et le cristal violet.

**Tableau 3.2 : Structures des composés utilisés comme matrice**

<b>Classe I</b>	 <p>Glycérol (GLY)</p>	 <p>1,2,6-Hexanetriol (HEX)</p>
<b>Classe II</b>	 <p>Thioglycérol (THIO)</p>	 <p>Disulfure de dihydroxyéthyle (HEDS)</p>
<b>Classe III</b>	 <p>2-Hydroxyéthylphénol (HPEA)</p>	 <p>Alcool métanitrobenzylique (NBA)</p>

Les impuretés qui pourraient nous causer des ennuis sont celles qui peuvent interférer dans la région de l'ion moléculaire, avec la signature isotopique de celui-ci. Dans le cas des pigments organiques, les impuretés majoritaires sont des espèces analogues de l'analyte, ayant des groupements méthyles ou éthyles en moins, selon la structure. Ces espèces analogues, ayant des masses inférieures à celle de l'ion moléculaire n'affecteraient donc pas la région qui nous intéresse.

Par ailleurs, on peut supposer que la réduction observée dans la région de l'ion moléculaire provienne plutôt de fragments d'impuretés de masses supérieures à celle de l'ion moléculaire. Or les spectres obtenus indiquent que ces impuretés sont des composantes mineures et de plus, la fragmentation est un procédé peu prononcé dans les techniques de désorption. Cette contribution au signal par ce procédé serait donc minime.

Bentz et al.<sup>49</sup> ont rapporté l'utilité de la méthode d'échange d'isotope hydrogène-deutérium en LSIMS pour l'étude des procédés de réduction. Ces observations démontrent que pour certains pigments organiques tels le bleu de méthylène, les signaux excédentaires dans la région de l'ion moléculaire peuvent être effectivement attribués aux réactions de réduction induites par le faisceau, et non pas à des impuretés potentielles ayant une masse de 1 ou 2 u.m.a. de plus que l'ion moléculaire.

La majorité des résultats publiés dans la littérature utilisent ces composés, tels que reçus du fabricant, pour l'étude de la réduction induite par bombardement. De plus, McEwan<sup>117</sup> procède à une purification préalable, mais observe tout de même la réduction de l'ion moléculaire. Il semble donc que la réduction de l'ion moléculaire est bel et bien un phénomène en soi, et non le fait de la présence d'impuretés. Compte tenu de ces circonstances, aucune purification préalable de nos composés n'a été effectuée.

Les spectres que nous avons obtenus pour tous nos composés sont exempts de tout signal significatif n'appartenant pas à l'analyte et ses fragments ou à la matrice. À titre d'exemple, les figures 3.2, 3.3 et 3.4 présentent respectivement, les spectres de solutions glycéroliques de rhodamine, cristal violet et bleu de méthylène. Il est à noter que la fragmentation n'est pas significativement affectée par les diverses conditions expérimentales employées dans cette étude. Il est donc peu probable que la déformation des signatures isotopiques des analytes proviennent d'une fragmentation préférentielle de  $M^+$  versus les espèces réduites  $[M+H]^+$  ou  $[M+2H]^+$ .

Pour une expérience typique, la préparation des solutions s'effectue en dissolvant dans un volume connu de matrice, un poids connu de l'analyte. Les trois pigments organiques utilisés dans notre étude sont aisément dissous dans toutes les matrices, et ce pour toutes les gammes de concentrations, allant de 0,005M à 0,1M. Ces solutions homogènes sont déposées en aliquots de 2  $\mu$ L sur la cible à l'aide d'une micro-pipette Wiretrol® (Drummond Scientific Co., Broomall, PA) et des solutions fraîches sont préparées pour chaque expérience.

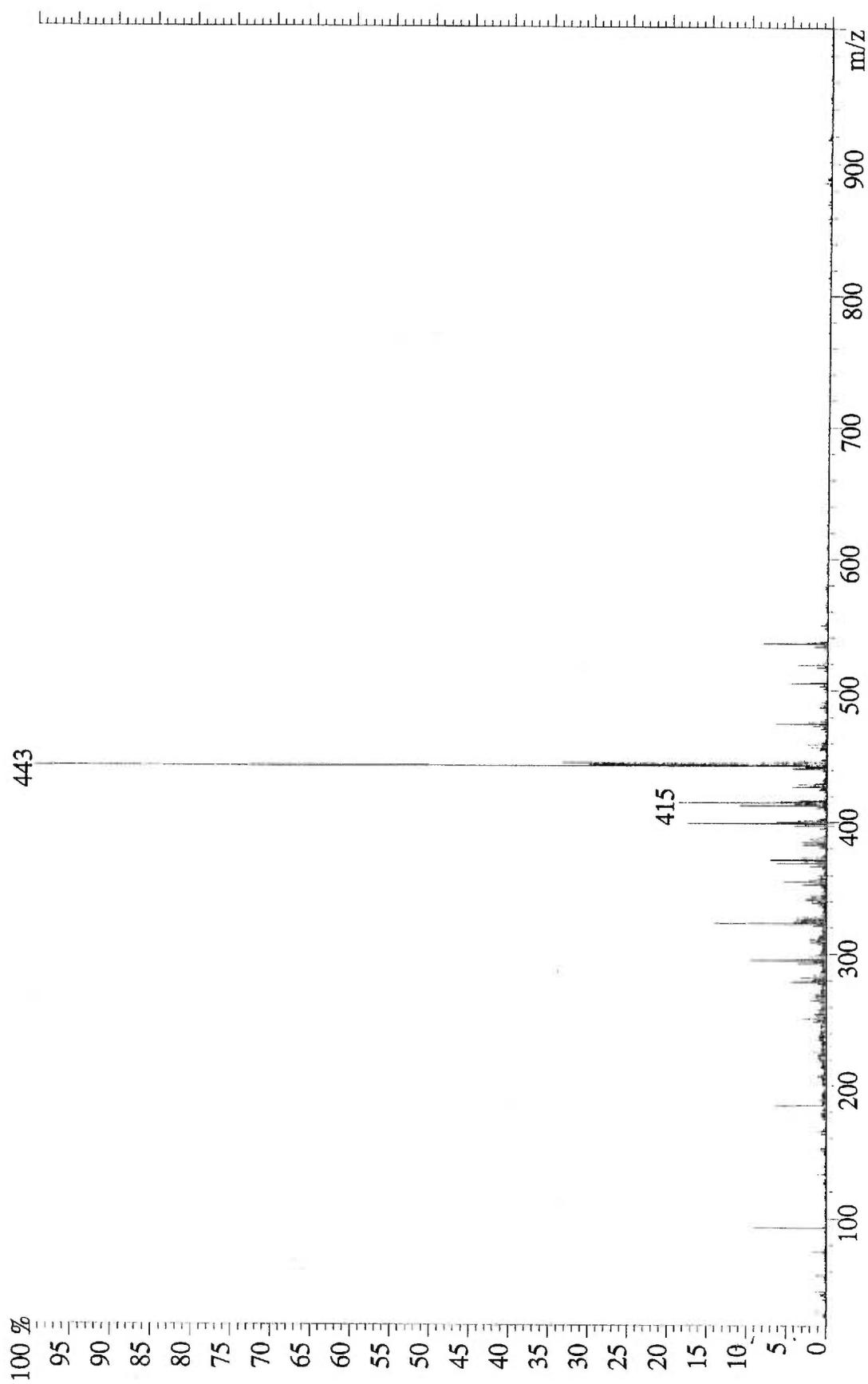


Figure 3.2: Spectre typique d'une solution glycérolique de rhodamine 0,1M, 14 keV, 1,5  $\mu$ A

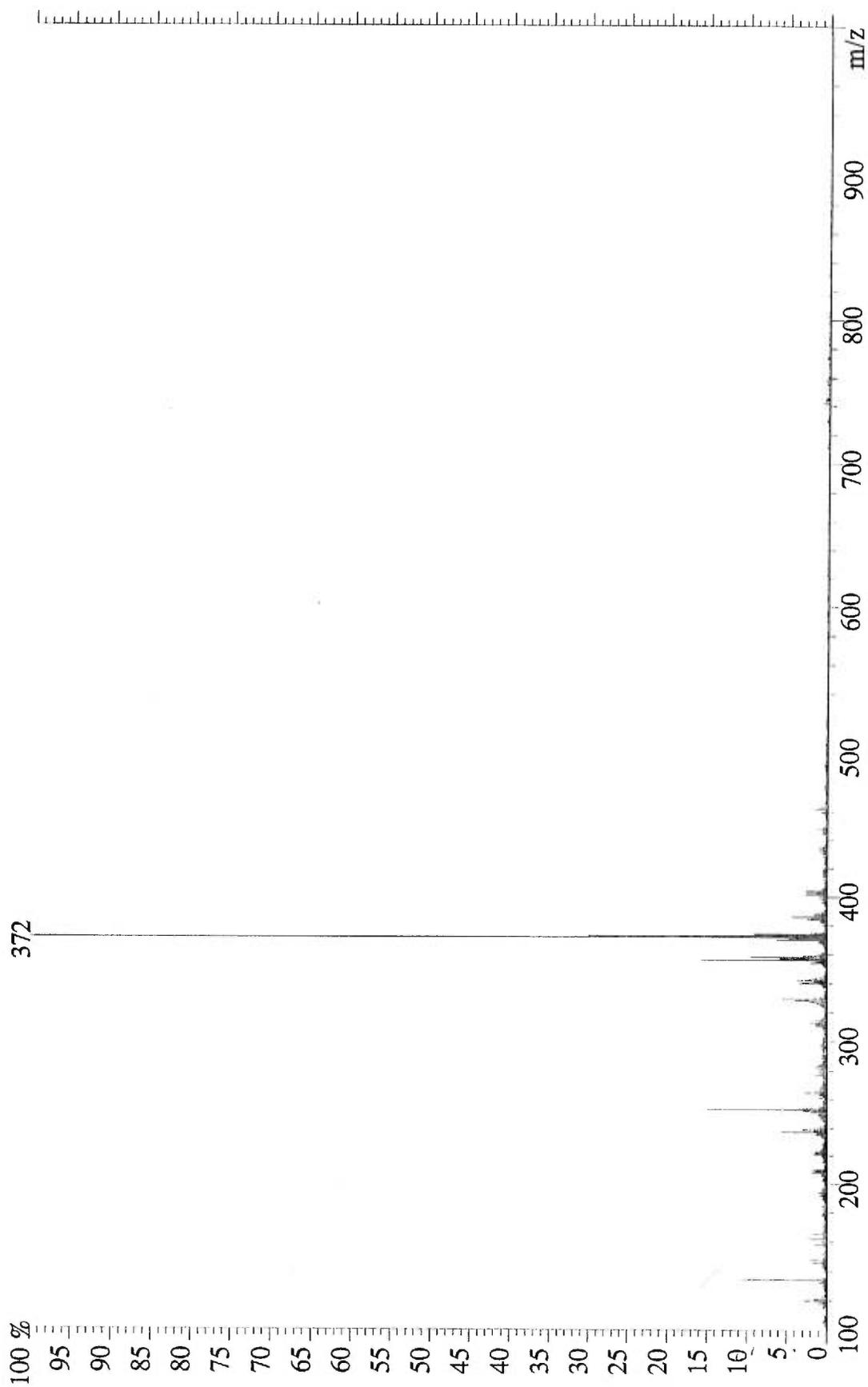


Figure 3.3: Spectre typique d'une solution glycérolique de cristal violet 0,1M, 14 keV, 1,5  $\mu$ A

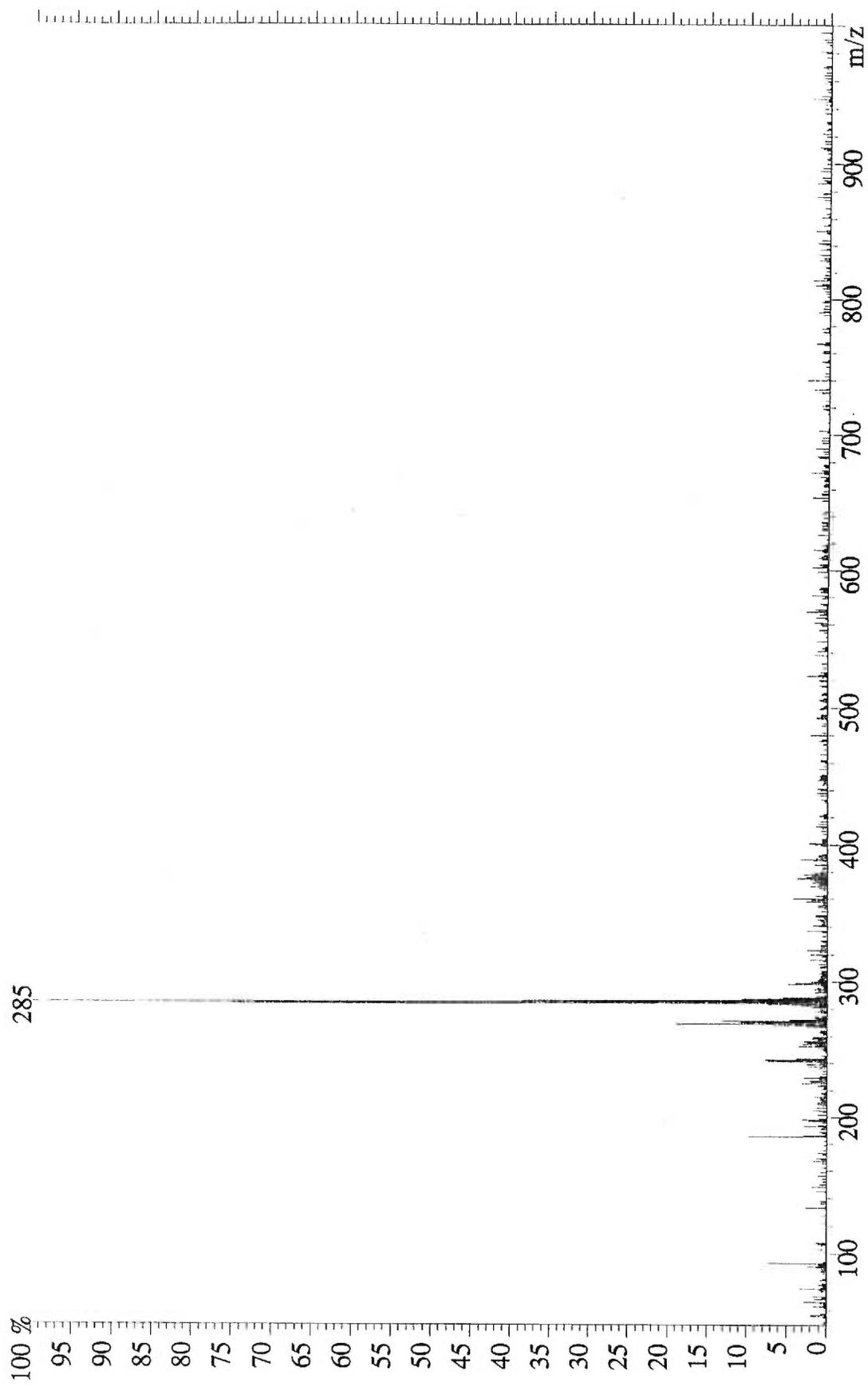


Figure 3.4: Spectre typique d'une solution glycérolique de bleu de méthylène 0,1M, 14 keV, 1,5 µA

### 3.3 Obtention et traitement des données

Toutes les acquisitions de données sont contrôlées par le système informatique VG Opus data system (Version 3.0) installé sur un environnement VAX. La calibration de l'échelle de masse de l'appareil est effectuée à l'aide d'une solution aqueuse saturée d'iodure de césium (Aldrich, 99.9%), déposée en un film mince sur la cible. Les résultats présentés découlent d'un minimum de trois acquisitions, chacune obtenue pour un aliquot frais de l'échantillon. L'incertitude relative du triplicata des abondances relatives est inférieure ou égale à 10%. La reproductibilité des résultats dans le temps pour un ensemble de conditions est vérifiée en répétant l'expérience une seconde fois à quelques jours d'intervalle.

Le signal obtenu sous forme de pic est intégré à l'aide de la fonction "Peak Detect Option" du système informatique Opus data system. Si le signal est stable, c'est-à-dire ne varie pas de plus de 10% au cours d'une acquisition, c'est la moyenne d'aires de chacun des pics de la région de l'ion moléculaire qui est utilisée. Dans le cas où le signal varie significativement durant l'analyse, chaque balayage est traité individuellement de manière à discerner la tendance. Dans les deux cas, les valeurs d'aires obtenues pour chaque pic de la région de l'ion moléculaire sont ensuite déconvoluées à l'aide du programme SIMBROC.

#### 3.3.1 SIMBROC et modèle mathématique

Le programme de déconvolution SIMBROC (Simulated Background and Reduction-Oxidation Calculations) a été développé dans notre laboratoire dans le cadre des études doctorales de Dr. Visentini<sup>41</sup>. Ce programme est écrit en Fortran 77 et peut être exécuté sur la station VAX de l'Autospec-Q. Le temps d'opération du programme est de 10 à 15 secondes environ et ne nécessite qu'une intervention mineure de l'opérateur pour l'entrée de

données, soit la formule empirique de l'analyte et l'aire des pics de la région de l'ion moléculaire. Les résultats obtenus sont mathématiquement corrects et physiquement significatifs et ont été le sujet de plusieurs études<sup>33-34, 42-47, 118-119</sup>.

### 3.3.2 Calculs semi-empiriques

La procédure suivie pour les calculs semi-empiriques est semblable à celle décrite dans la publication de Belletête et al.<sup>120</sup>. Les calculs ont été gracieusement effectués par Dr. Belletête à l'aide de l'ensemble HYPERCHEM (Hypercube Inc.), version 4.5 pour Windows, sur un ordinateur Pentium possédant une mémoire vive de 16 Mb. Cet ensemble a été utilisé pour dessiner les molécules et pour une optimisation grossière de leur géométrie en utilisant le champ de forces MM<sup>+</sup> qui est une extension de la méthode MM2 développée par Allinger. Une optimisation plus précise a été obtenue par la méthode AM1 (Austin Model 1) qui inclut les paramètres pour l'atome de soufre. La méthode ZINDO/S qui inclut les interactions de configurations (CI) telles que présentées par l'ensemble HYPERCHEM a été employée pour calculer les énergies des orbitales moléculaires inoccupées de plus basses énergies (LUMO).

## **CHAPITRE 4**

### **EFFETS DES PARAMÈTRES EXPÉRIMENTAUX SUR LES PROCÉDÉS RÉDOX DÉCONVOLUÉS**

Le deuxième chapitre a exposé les conséquences importantes qu'entraîne le choix de certains paramètres expérimentaux sur la réduction dans la région de l'ion moléculaire. Cependant, la prudence est de mise puisque ces conclusions publiées sur le comportement de la réduction face à ces paramètres reposent sur le degré apparent de ce procédé. L'inexactitude des tendances est assez probable puisqu'un degré apparent de réduction résulte de la convolution de plusieurs signaux dans la région de l'ion moléculaire. Ainsi, aux faibles concentrations d'analyte en solution, la réduction apparente est importante, mais il est difficile d'attribuer ceci à une plus faible concentration de l'analyte en solution plutôt qu'à une augmentation du signal de fond.

Cet état de fait commande un nouvel examen du comportement des procédés rédox réels obtenus par déconvolution en fonction des divers paramètres expérimentaux. Cette étude comparative entre ces tendances réelles et celles publiées dans la littérature permettra la vérification de la souplesse d'application de SIMBROC pour une autre classe de composés que les peptides en étudiant cette fois-ci, un système qui affiche un degré significatif de réduction. Il est important de souligner que la possibilité d'isoler distinctement les deux procédés réels  $\text{Red}_1$  et  $\text{Red}_2$  est un atout majeur dans l'étude fondamentale des procédés de réduction en LSIMS/FAB, puisqu'il devient possible de proposer un mécanisme juste, une fois le comportement distinct de ces deux procédés en main. Par souci de rigueur, il est impératif de contrôler et de mentionner tous les paramètres expérimentaux utilisés susceptibles d'affecter les procédés de réduction. Donc, tous les résultats rapportés dans ce chapitre feront mention de la concentration de l'analyte ( $\text{mole L}^{-1}$ ), de la nature de la matrice employée ainsi que de l'énergie (keV) et la densité du faisceau d'ions primaires  $\text{Cs}^+$ . Puisque la relation linéaire entre l'émission nominale du courant et la densité des particules atteignant la cible a déjà été démontrée<sup>33</sup>, c'est donc le courant nominal lu sur l'instrument qui servira de témoin de la densité de ce faisceau bombardant.

Ce n'est qu'après avoir exposé les comportements des procédés réels de réduction en fonction de paramètres expérimentaux clés, qu'il nous sera possible de présenter un modèle qui proposera un mécanisme réactionnel plausible.

Avant d'énoncer toute généralisation quant à l'effet des paramètres expérimentaux sur les procédés de réduction, il faut garder à l'esprit que chaque paire analyte/matrice est un système distinct, avec des propriétés chimiques et physiques spécifiques.

#### **4.1 Paramètres chimiques**

##### **4.1.1 Rôle de la matrice**

L'importance de la nature de la matrice sur les procédés réels de réduction a été étudiée ici en utilisant plusieurs matrices communément employées en LSIMS/FAB (voir Tableau 3.2 ). Cependant, il nous apparut assez rapidement que le système bleu de méthylène-thioglycérol devrait faire l'objet d'une mise en garde à ce stade-ci de l'étude.

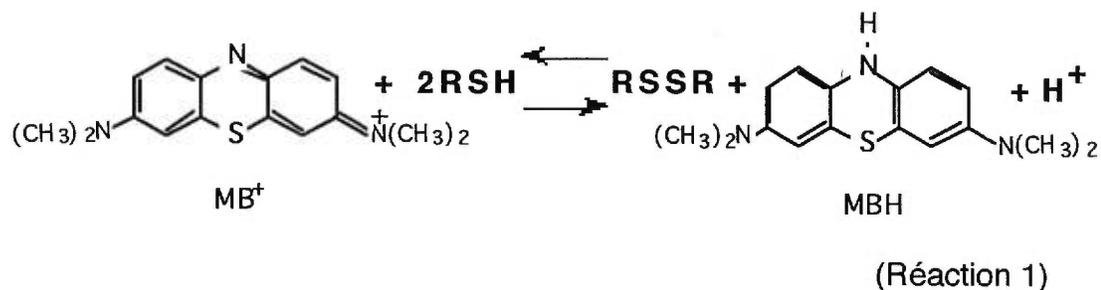
##### **a) système thioglycérol-bleu de méthylène**

Le thioglycérol (THIO) est un composé communément employé comme matrice dans les techniques de désorption en spectrométrie de masse. Matrice aliphatique soufrée ayant un  $pK_a$  de 9,34<sup>122</sup>, elle remplace parfois le glycérol comme solvant habituel puisqu'elle permet la dissolution de composés autrement difficiles à mettre en solution. Il n'est donc pas rare de trouver des études faisant foi de l'emploi de cette matrice.

À l'encontre du glycérol, le thioglycérol semble faire preuve d'un caractère inhibiteur face aux procédés induits sous bombardement<sup>38-40, 88</sup>. Par exemple dans une étude portant sur les sels alkyropyridinium, Keough et al.<sup>121</sup> démontrent que l'emploi du thioglycérol supprime efficacement la formation d'ions adduits qui sont observés à l'emploi du glycérol. L'auteur attribue cette différence majeure à la nature différente des radicaux formés sous bombardement dans ces matrices; il suggère que les radicaux RS<sup>•</sup> provenant du thioglycérol irradié seraient moins réactifs que les radicaux RC<sup>•</sup> provenant du glycérol face aux sels de pyridinium.

Cependant, il apparaît aussi que l'emploi du thioglycérol comme matrice dans l'analyse de certains peptides peut mener à une formation importante d'espèces réduites. En effet, les peptides présentant un lien S-S dans leur structure sont réduits de manière extensive à l'emploi de matrice soufrée telle le thioglycérol<sup>118</sup>. Il appert que le bleu de méthylène est aussi susceptible de se réduire en présence de thioglycérol, de manière spontanée, i.e. avant le bombardement. C'est ce que présente une étude<sup>122</sup> qui porte sur la cinétique de l'oxydation des thiols par le bleu de méthylène. La réaction en cause (réaction 1) mène à la production de la forme réduite du bleu de méthylène, le leuco-bleu de méthylène (MBH), un composé incolore dû à la perte du caractère aromatique qu'entraîne l'addition d'hydrogène. Le coefficient élevé d'extinction molaire de MB<sup>+</sup> ( $\epsilon_{\lambda=650\text{nm}} = 51\,200 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) permet de suivre aisément la progression de la réaction.

Kazakoff et al.<sup>38</sup> rapportent bien une décoloration rapide de leurs solutions MB-THIO, sans toutefois en fournir l'explication. L'existence de cette réaction spontanée signifie que l'aspect du spectre de masse obtenu pour une solution MB-THIO sera dépendant du temps écoulé entre la préparation de la solution et l'analyse.

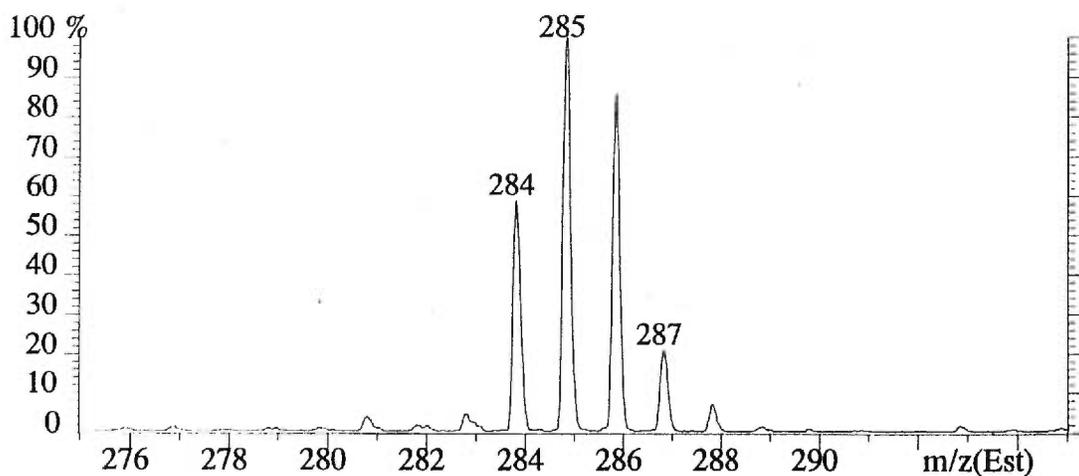
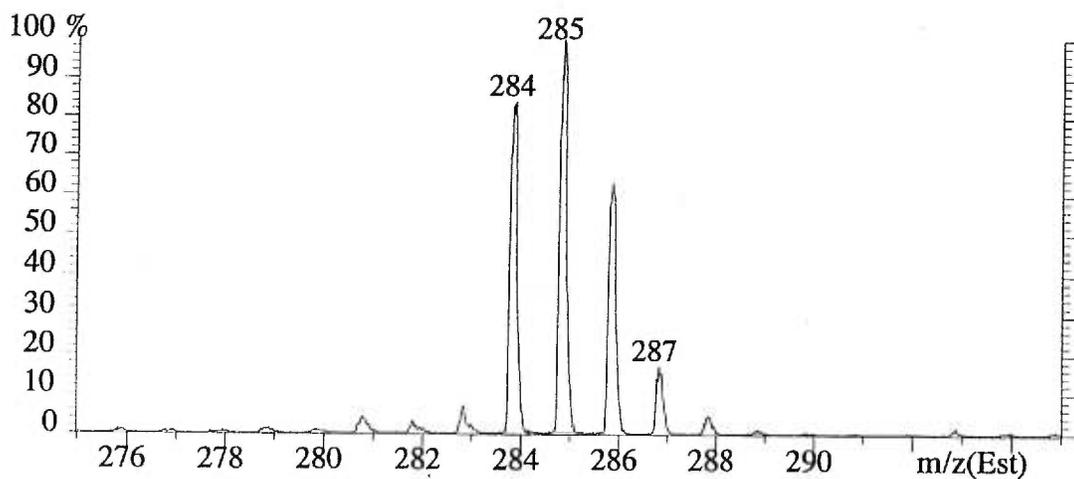
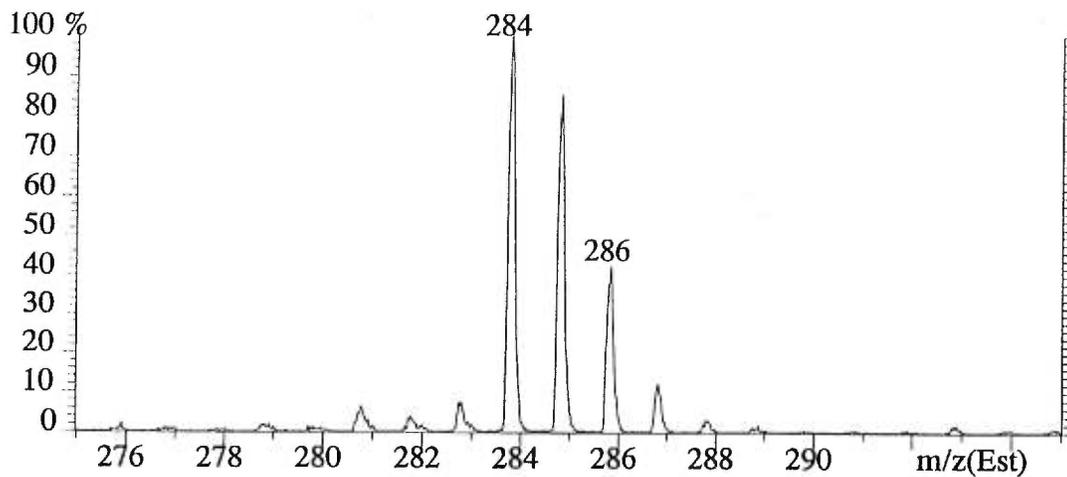


Malgré l'existence de cette réaction parasite, quelques études prônent encore l'usage du thioglycérol pour inhiber la réduction du bleu de méthylène. Dans ces circonstances, il n'est pas surprenant de retrouver une disparité entre les résultats publiés dans la littérature pour ce système, comme le rapporte le Tableau 4.1.

**Tableau 4.1 Abondances relatives des pics de la région de l'ion moléculaire pour le système MB-THIO**

A	A+1	A+2	Référence
63	79	100	38
87	100	76	40
100	20	6	calculé

Afin de démontrer l'aspect variable du spectre du système MB-THIO en fonction du temps écoulé entre la préparation du mélange et l'analyse, une observation en temps réel a été effectuée sur un échantillon fraîchement préparé 0,025M MB-THIO. À intervalle de temps régulier, un spectre de la région de l'ion moléculaire provenant d'un nouvel aliquot est obtenu. Afin d'obtenir des résultats reproductibles et significatifs, on s'assure d'une procédure de préparation identique pour les solutions fraîches : 30 secondes s'écoulent entre le mélange et l'irradiation de la solution. L'expérience est effectuée en triplicata, donc avec trois solutions fraîches. La Figure 4.1 montre trois spectres obtenus à a) t = 30 s, b) t = 14 minutes et c) t = 23 minutes après la préparation de la solution. L'observation révèle que la



**Figure 4.1** : Spectres de masse en fonction du temps de réaction pour une solution 0,025M thioglycol-bleu de méthylène a) t=30 s, b) t=14 minutes, c) t=23 minutes (14 keV, 1,5  $\mu$ A)

distribution des pics isotopiques varie de manière dramatique, avec un ion parent  $M^+$  (à  $m/z = 284$ ) qui devient progressivement minoritaire au profit de l'ion  $(M+1)^+$  et de l'ion  $(M+2)^+$ . L'espèce leuco-bleu de méthylène MBH et l'espèce radicalaire  $MB^{\cdot}$ , intermédiaire dans la réaction (1), sont isobares aux pics isotopiques  $(M+2)^+$  et  $(M+1)^+$  respectivement.

Sachant qu'il est difficile de distinguer les tendances des procédés réels de réduction sans déconvolution, les intensités des pics sont traitées à l'aide de SIMBROC, et les résultats sont présentés dans le Tableau 4.2.

Tel qu'indiqué dans ce tableau, on note que l'augmentation du degré de réduction  $Red_1$  et  $Red_2$  se traduit par une diminution parallèle de l'ion moléculaire  $Red_0$ . Cependant, il semble que les deux procédés de réduction n'affichent pas le même niveau de croissance au fil du temps, distinction difficile à faire au simple examen des spectres de masse; alors que  $Red_1$  passe de 32,8% à 44,5%, le procédé  $Red_2$  a plus que triplé au cours de l'analyse. Il semble donc que les deux procédés de réduction sont des réactions consécutives plutôt que parallèles. Pour des réactions consécutives, et donc non-compétitives, la faible variation de  $Red_1$  dans le temps suggère que l'espèce  $(M+H)^+$  est en fait un intermédiaire à la formation de l'espèce  $(M+2H)^+$ . Il est à noter que tel que prévu, cette augmentation progressive des produits de réduction est accompagnée par une décoloration graduelle de la solution dans le flacon.

Kazakoff <sup>38</sup> reconnaît que l'abondance excessive des pics  $(M+nH)^+$  qu'il observe dans le spectre des solutions MB-THIO puisse provenir d'une réaction quelconque entre l'analyte et la matrice avant le bombardement. Pour enrayer cette réaction secondaire, il propose l'emploi d'une matrice thioglycérol 0.2M/glycérol. En plus petite concentration, l'auteur soupçonne que le thioglycérol est capable d'agir à titre de trappe à radicaux  $H^{\cdot}$ , ces derniers

**Tableau 4.2 : Analyse en temps réel des procédés de réduction obtenus par SIMBROC (MB-THIO, 0,025M, 14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

MB<sup>+</sup> → MBH (réduction chimique spontanée)

<b>Procédés de réduction calculés par SIMBROC</b>			
(%)			
Temps *(sec)	Red <sub>1</sub>	Red <sub>2</sub>	Red <sub>0</sub>
30	32,8	11,7	51,6
388	38,6	20,2	38,8
636	43,2	20,1	34,5
1197	44,3	29,5	25,1
1657	44,2	30,0	24,1
2304	46,2	35,4	17,7
2610	44,5	40,0	15,7

\* Temps écoulé entre le mélange et l'analyse

Red<sub>1,2</sub> : degré réel de réduction

Red<sub>0</sub> : ion moléculaire qui ne subit pas de réactions rédox

étant produits par le bombardement du glycérol. Or, nos résultats démontrent que l'ajout de thioglycérol à la matrice de glycérol n'a pas un effet inhibiteur aussi marqué sur les procédés réels de réduction que rapporté par l'auteur.

À titre d'exemple, les procédés réels de réduction du bleu de méthylène obtenus après 1 minute d'irradiation premièrement dans une matrice de glycérol et deuxièmement dans un mélange glycérol-thioglycérol 0,2M sont comparés dans le Tableau 4.3. L'ajout de thioglycérol n'a qu'un effet minime sur les procédés réels de réduction, et comme nous le verrons plus loin, d'autres matrices sont beaucoup plus en mesure de supprimer ces procédés.

**Tableau 4.3 Effet sur les procédés réels de réduction d'un ajout de thioglycérol à une matrice de glycérol (0,005M, MB, 14 keV, 1,5  $\mu$ A, t = 1 minute)**

<b>Matrice</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	<b>Red<sub>2</sub></b>
Glycérol	44,3 %	39,0 %
Thioglycérol 0,2M/glycérol	42,1 %	28,3 %

Puisque l'usage d'une matrice en LSIMS/FAB suppose l'inertie de celle-ci face à l'analyte, on devrait éviter l'emploi du thioglycérol avec le bleu de méthylène. Ce dernier possède un potentiel de réduction  $E^{\circ}_{1/2} = -0,269$  V. Quant aux deux autres analytes, le cristal violet et la rhodamine, leur potentiel de réduction est de  $-0,642$  V et  $-0,825$  V respectivement. L'analyse de ceux-ci avec le thioglycérol ne présente aucun problème puisque le mélange est inerte. La réaction n'étant pas spontanée avec ces deux autres composés, on peut supposer que le potentiel de réduction du thioglycérol est  $0,269$  V  $< E_{RED}$

0,642 V. Théberge et al.<sup>88</sup> ont démontré par l'expérience que le potentiel de réduction du thioglycérol se situe entre  $1,00 \text{ V} > E_{\text{RED}} > 0,70 \text{ V}$ .

## **b) nature de la matrice**

Plusieurs études indiquent que le choix de la matrice est le paramètre expérimental le plus influent sur la réduction observée. Pour expliquer le rôle que tient la matrice dans les procédés de réduction, il faut tout d'abord s'interroger à savoir si ce rôle est direct ou indirect. Un rôle direct impliquerait que la matrice intervient de manière intime en inhibant ou en induisant les procédés de réduction sous bombardement par la formation ou la capture d'espèces réactives. Par contre, un rôle indirect signifierait que ce sont plutôt les aspects physiques de la matrice, comme sa tension de surface ou sa capacité à solubiliser l'analyte, qui pourraient jouer sur le degré de réduction observé sous le bombardement.

Les études portant sur les procédés induits par bombardement s'entendent sur le fait que le glycérol, la plus commune des matrices, est en fait celle qui favorise le plus ces réactions. Quoiqu'il n'existe pas de consensus sur le mécanisme responsable, l'explication de la différence du pouvoir réducteur des matrices repose sur des aspects chimiques plutôt que physiques.

Il est possible d'expliquer l'efficacité que possède une matrice donnée à inhiber ou induire les procédés de réduction en terme de groupes fonctionnels que celle-ci possède. Il semble en effet que l'on puisse relier les caractéristiques structurelles des matrices à la présence d'espèces réduites observées dans les spectres. Par exemple dans l'étude d'un autre procédé induit sous bombardement, Théberge et al.<sup>88</sup> proposent un classement des matrices basé sur leur structure pour expliquer la déhalogénéation observée dans les spectres d'une série d'esters aromatiques halogénées. Les auteurs

en arrivent à dégager trois groupes distincts, soit les matrices aliphatiques, les matrices aliphatiques soufrées et les matrices aromatiques; ce regroupement est représenté respectivement dans le Tableau 3.1 par les classes I, II et III. Les auteurs en arrivent également à dégager un sous classement des matrices aromatiques relié à la présence de groupes électro-donneurs ou électro-attracteurs dans leur structure.

Théberge explique essentiellement les conclusions qui sont rapportées dans la littérature des procédés induits par bombardement par la chimie des matrices. Ainsi les matrices aliphatiques composent le groupe le moins efficace en terme d'inhibition de procédés alors que la présence de soufre dans la structure confère à la molécule une légère capacité à inhiber les procédés de réduction. C'est le caractère réducteur ou oxydant de la cascade radicalaire produite sous bombardement qui explique cette différence; pour le glycérol, les radicaux  $R\cdot\text{CHOH}$  formés sont réducteurs, alors que pour le thioglycérol, les radicaux  $RS\cdot$  sont oxydants. Quant aux molécules aromatiques, l'amplitude de leur caractère inhibiteur semble reposer sur la présence de groupes électro-donneurs ou électro-attracteurs. Plus exactement, les matrices possédant un groupe électro-attracteur (tel  $-\text{NO}_2$ ) semblent être celles qui inhibent le plus efficacement les divers procédés induits dits de réduction comparativement aux matrices ayant un groupe électro-donneur (tel  $-\text{OH}$ ). Kebarle et al.<sup>123</sup> ont démontré que l'affinité électronique d'un composé possédant un groupe électro-attracteur est plus grande que celle d'un composé possédant un groupement électro-donneur. Par ailleurs, l'affinité électronique, une propriété des composés gazeux, semblent décrire les mêmes tendances que le potentiel de réduction  $E_{1/2}$ , une propriété des composés liquides<sup>88</sup>. Le caractère inhibiteur des matrices aromatiques pourrait donc être fortement relié à leur affinité électronique. La rationalisation des procédés de réduction par la chimie des matrices semble mettre en lumière le rôle important que semblent jouer les électrons et les radicaux dans le mécanisme.

Une classification des matrices usuelles en fonction de leur pouvoir réducteur a été plusieurs fois réalisée dans la littérature; Kyranos<sup>39</sup> ordonne par ordre décroissant de pouvoir réducteur les matrices suivantes pour une série de cinq pigments organiques: Glycérol > Sulfolane > Thioglycérol > Disulfure de dihydroxyéthyl (HEDS) > Alcool méτανitrobenzylrique (NBA). Ce classement est en accord, à quelques substitutions près avec celui présenté par d'autres études <sup>40, 124</sup>, même en ce qui concerne la déhalogénéation<sup>88, 113</sup>. Quelles que soient les variations sur l'ordre des matrices les unes par rapport aux autres dans les diverses études, le glycérol et le NBA se retrouvent toujours aux extrémités de ce classement. Rappelons que la majorité des études ne mentionnent pas ou ne contrôlent pas plusieurs paramètres expérimentaux qui ont une influence importante sur la réduction, et il n'est donc pas étonnant de retrouver une différence dans l'ordre de classement des matrices rapportée par des études indépendantes.

Par ailleurs, il faut se rappeler que ces résultats reposent sur les procédés apparents de réduction. Il est donc possible que ce classement ne s'avère pas exact pour les procédés réels de réduction. Il est également possible que les deux procédés de réduction réels, Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> n'obéissent pas aux matrices de la même manière, et donc l'ordre de classement des matrices pourrait être différent pour ces deux procédés. Finalement, il est possible que ce classement soit aussi dépendant de la concentration de l'analyte en solution; la réduction apparente est déduite du signal excédentaire à la signature isotopique de l'analyte et aux faibles concentrations, le signal de fond de la matrice est généralement plus important tout comme sa contribution au signal de la région de l'ion moléculaire. De plus, si le caractère réducteur/inhibiteur d'une matrice repose sur des propriétés physiques de la solution comme la solubilité de l'analyte, il est probable qu'une concentration différente de celui-ci apporte des changements au classement. Puisque chaque matrice produit sous bombardement des espèces réactives

spécifiques, et puisque chaque paire analyte/matrice présente un système particulier, il est peut être possible que le classement des matrices varie en fonction de l'analyte, de la concentration et même en fonction du procédé de réduction que l'on observe.

Pour vérifier ceci, les procédés rédox déconvolués Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub>, ont été obtenus pour les trois analytes dans diverses matrices et sont présentés au Tableau 4.4. À l'examen de ce tableau il appert que le glycérol est effectivement la matrice qui engendre le plus de réduction Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub>. Dans tous les cas, le NBA est la matrice qui s'avère la plus efficace pour enrayer les deux procédés de réduction. Pour ce qui est du bleu de méthylène, le classement des matrices en fonction de leur pouvoir réducteur décroissant est Gly > HPEA > HEDS > NBA et ce, pour les deux procédés réels Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub>. Pour les deux autres analytes (VL et RH) qui démontrent des procédés de réduction moindre, l'effet de la matrice est moins important. Il faut souligner que les procédés de réduction pour ces deux analytes sont majoritairement inférieurs à 10% (sauf pour Red<sub>2</sub> de la rhodamine dans le glycérol), et donc peu significatifs et plus sensibles aux erreurs. Le classement pour la rhodamine est Gly ≥ Thio ≥ HPEA > HEDS > NBA pour les deux procédés de réduction; cependant pour Red<sub>1</sub>, les matrices THIO et HPEA semblent donner un degré de réduction légèrement supérieur ou égal à celui obtenu dans le glycérol (~ 3%), quoique cette différence ne soit pas très significative.

Afin de vérifier l'effet de la concentration de l'analyte sur le pouvoir réducteur de la matrice, la même étude comparative a été effectuée mais cette fois à une concentration supérieure, soit 0,05M. Les résultats sont présentés au Tableau 4.5. L'examen des résultats révèle que la concentration n'a pas un effet significatif sur le classement obtenu à plus faible concentration. Par exemple pour le bleu de méthylène, le classement des matrices est identique aux deux concentrations pour les deux procédés de réduction, soit Gly > HPEA > HEDS > NBA. Pour la rhodamine, la concentration de l'analyte n'influence pas le

**Tableau 4.4 : Procédés a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> obtenus pour le bleu de méthylène, le cristal violet et la rhodamine dans différentes matrices. (0,025M, 14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

**a) Red<sub>1</sub> (%)**

<b>MATRICES</b>					
	GLY	THIO	HPEA	HEDS	NBA
Bleu de méthylène	45,7	*	41,4	12,0	9,7
Cristal violet	7,1	4,8	4,8	2,8	1,0
Rhodamine	3,0	2,9	3,6	2,1	0,0

**b) Red<sub>2</sub> (%)**

<b>MATRICES</b>					
	GLY	THIO	HPEA	HEDS	NBA
Bleu de méthylène	21,0	*	12,3	3,6	0,1
Cristal violet	6,5	0,9	2,6	1,0	0,0
Rhodamine	20,2	0,9	1,2	0,0	0,0

\* Interférence de la réaction spontanée

**Tableau 4.5 : Procédés a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> obtenus pour le bleu de méthylène, le cristal violet et la rhodamine dans différentes matrices. (0,05M, 14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

**a) Red<sub>1</sub> (%)**

<b>MATRICES</b>					
	GLY	THIO	HPEA	HEDS	NBA
Bleu de méthylène	41,0	*	34,4	11,0	8,3
Cristal violet	6,4	6,6	5,3	2,6	0,0
Rhodamine	1,9	3,7	4,3	3,2	0,0

**b) Red<sub>2</sub> (%)**

<b>MATRICES</b>					
	GLY	THIO	HPEA	HEDS	NBA
Bleu de méthylène	9,8	*	8,0	1,2	0,0
Cristal violet	6,3	1,1	1,7	0,8	0,0
Rhodamine	16,3	0,0	1,8	0	0,0

\* Interférence de la réaction spontanée

classement des matrices obtenu pour Red<sub>1</sub> ni celui obtenu pour Red<sub>2</sub>. Pour ce qui est du cristal violet, on observe un classement différent, mais seulement pour le procédé Red<sub>1</sub>. Cette influence de la concentration sur le classement, quoique faible, pourrait indiquer que des caractéristiques physiques jouent un certain rôle dans les procédés de réduction. Somme toute, le classement qui découle des résultats obtenus pour les procédés réels de réduction est sensiblement en accord avec le classement donné dans la littérature pour les procédés apparents. De plus, ce classement correspond au caractère inhibiteur des matrices tel que proposé par Théberge et al.<sup>88</sup>.

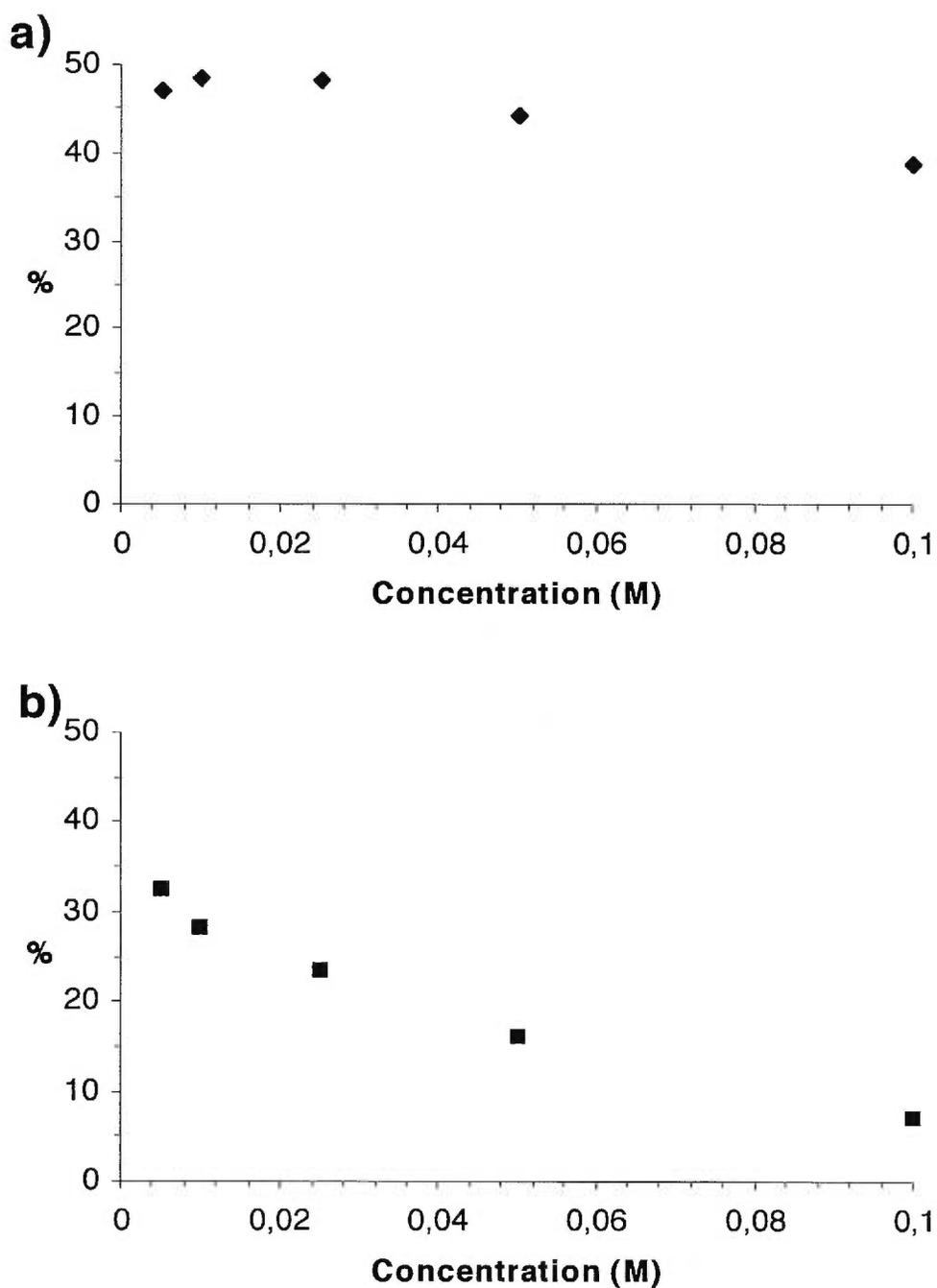
#### 4.1.2 Concentration

Intuitivement, il est reconnu que la concentration de l'analyte en solution aura une influence sur l'intensité du signal obtenu. Par surcroît, il semble que la concentration de l'analyte joue aussi sur le degré de réduction observé dans la région de l'ion moléculaire. Pourtant, l'effet de la concentration demeure un paramètre relativement peu étudié et les publications dans le domaine de la réduction induite par bombardement en font souvent abstraction ou alors ne le contrôlent pas de manière précise. Les quelques études qui prennent soin de contrôler et d'étudier ce paramètre observent une relation inverse entre le degré de réduction apparent et la concentration de l'analyte en solution<sup>33-36, 48</sup>. Les conclusions découlant de ces études sont basées sur le degré de réduction apparent, et les auteurs supposent que ces observations sont valables pour les deux procédés de réduction. Or, cette corrélation peut non seulement provenir d'une réelle augmentation de la réduction aux faibles concentrations d'analyte, due au plus grand nombre de molécules de matrice entourant les molécules d'analyte, mais aussi à une détérioration du rapport signal sur bruit.

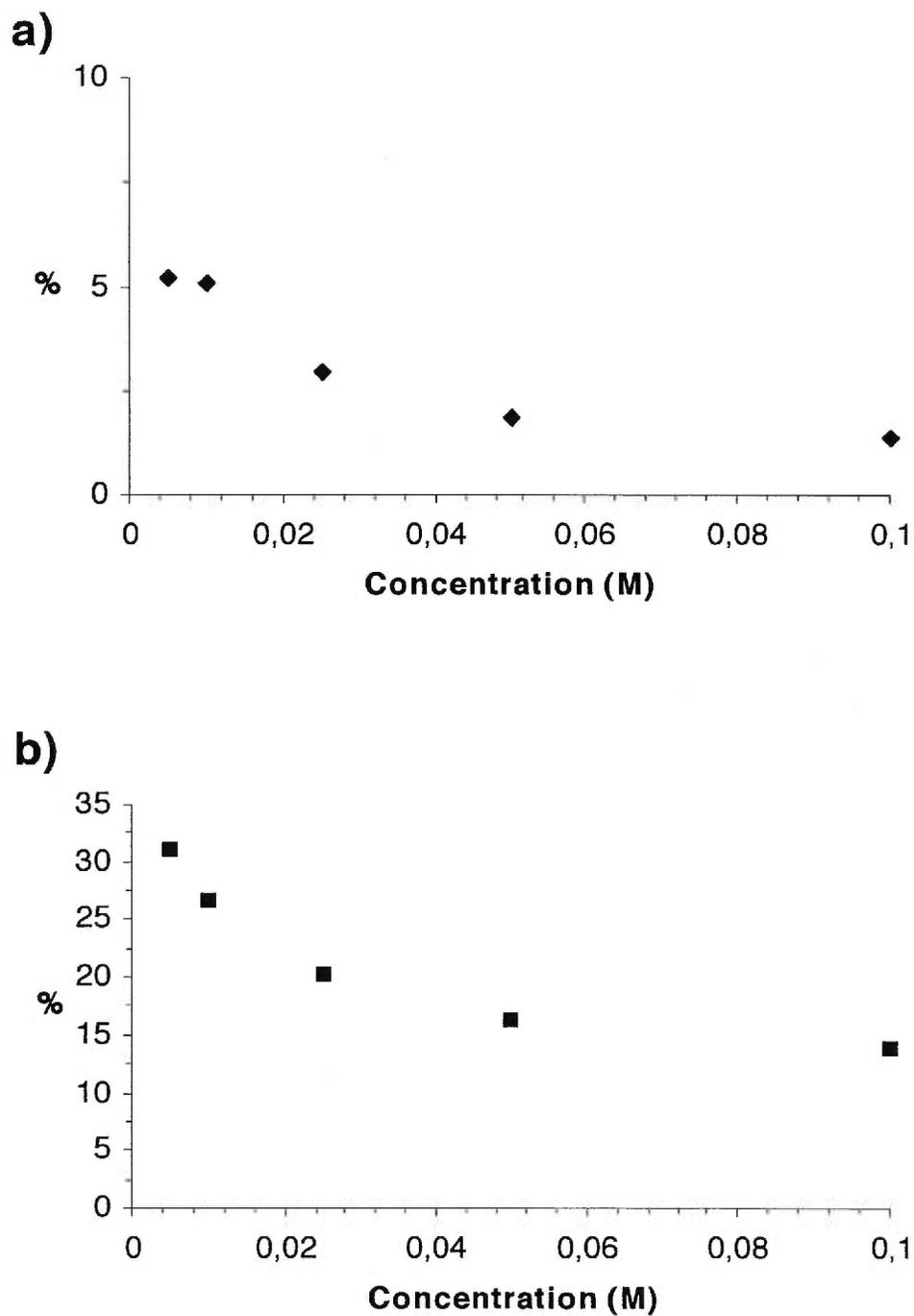
L'obtention des procédés réels de réduction pour différentes concentrations aura donc pour objet de vérifier premièrement la tendance des

procédés réels face à ce paramètre et de vérifier si celle-ci est analogue pour  $Red_1$  et  $Red_2$ . La Figure 4.2 présente les degrés réels de réduction  $Red_1$  et  $Red_2$  en fonction de la concentration de bleu de méthylène dans une matrice de glycérol. Nous verrons plus loin que le degré de réduction du bleu de méthylène, à une concentration de 0,005M dans le glycérol, varie avec le temps. Les données présentées à la Figure 4.2 pour cette concentration sont donc celles obtenues après 300 secondes de bombardement. Les valeurs pour les autres concentrations sont des moyennes, puisque la variation avec le temps d'irradiation des procédés de réduction n'existe qu'à 0,005M. L'examen des graphes de cette figure révèle que la concentration de l'analyte joue effectivement un rôle non négligeable sur le degré de réduction réel que subit celui-ci. Cependant, il semble que la sensibilité des deux procédés face à ce paramètre ne soit pas la même; par exemple, alors que  $Red_2$  témoigne d'une croissance marquée aux faibles concentrations,  $Red_1$  est faiblement influencé dans la même échelle de concentration.

Le comportement de  $Red_1$  et  $Red_2$  en fonction de la concentration de rhodamine et de cristal violet est exposé aux Figures 4.3 et 4.4. Ces graphes révèlent essentiellement la même tendance, i.e. que le procédé  $Red_2$  est le plus sensible à la variation de concentration. Fait important à souligner, une dépendance à la concentration n'est plus observée pour des matrices ayant une tension de surface moindre comme le HEDS ou le NBA par exemple. Cependant, ces dernières sont aussi des matrices qui inhibent fortement les procédés de réduction (voir tableaux 4.4 et 4.5); les procédés de réduction étant moindre que dans le glycérol, une variation dans ces procédés apportée par un changement de la concentration est plus difficile à déceler.



**Figure 4.2 : Effet de la concentration sur a) Red<sub>1</sub>, et b) Red<sub>2</sub>, pour des solutions glycéroliques de bleu de méthylène. (14 keV, 1,5  $\mu$ A)**



**Figure 4.3 : Effet de la concentration sur a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour des solutions glycéroliques de rhodamine. (14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

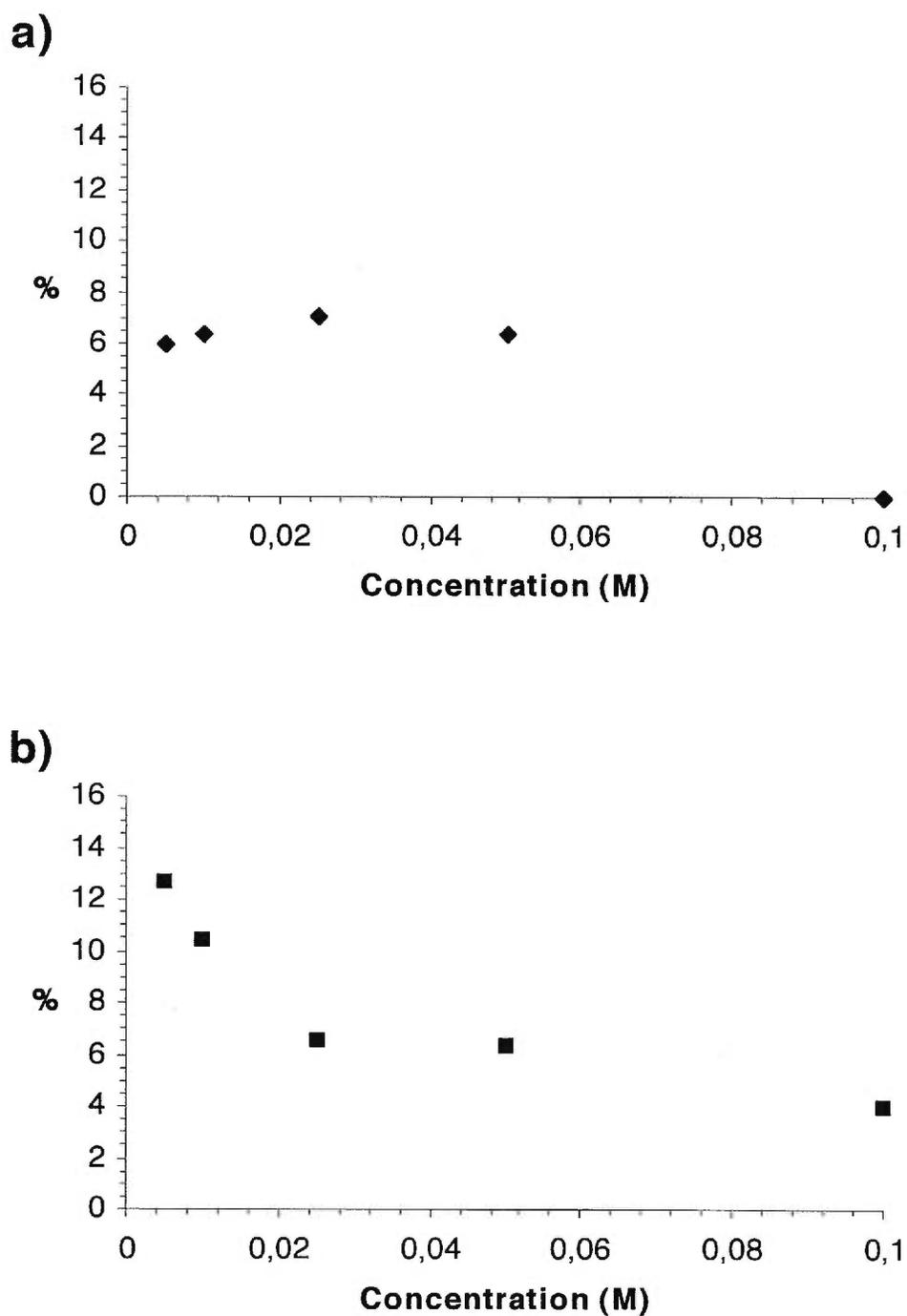
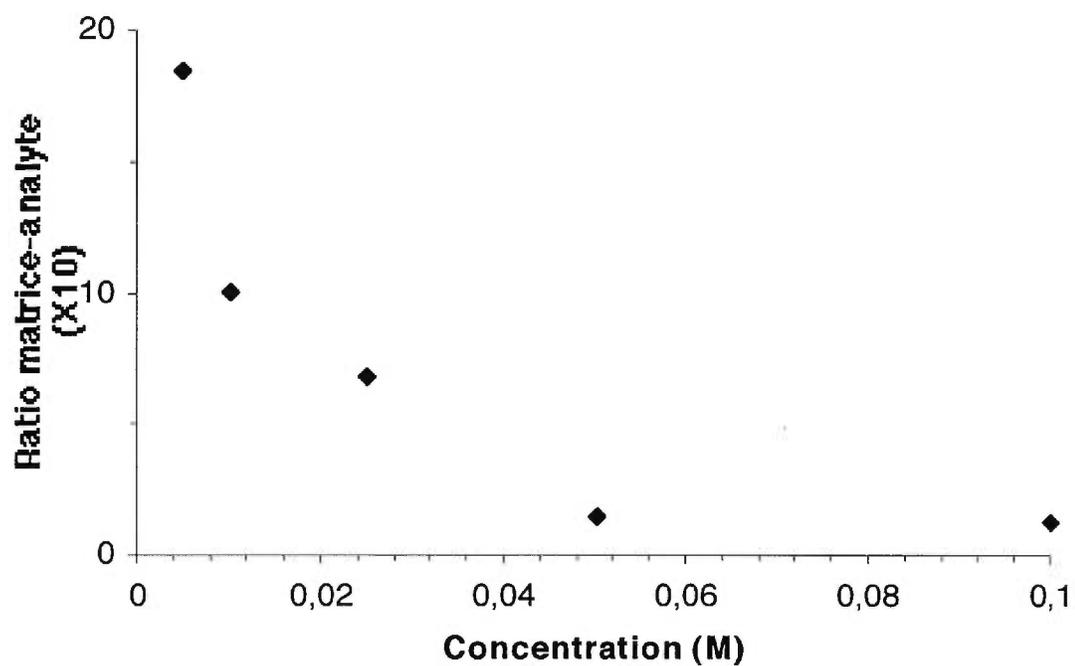


Figure 4.4 : Effet de la concentration sur a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour des solutions glycéroliques de cristal violet. (14 keV, 1,5  $\mu$ A)

Les résultats des figures 4.2, 4.3 et 4.4 traduisent en fait la dépendance des procédés de réduction réels au ratio matrice-analyte, à des valeurs de ratio plus élevées, i.e. à des concentrations moindres d'analyte, le degré de réduction est plus important. Ceci semble impliquer de manière assez ferme la matrice dans les procédés de réduction. Il est possible qu'aux faibles concentrations, la dilution de la solution, du moins en surface, provoque une dispersion de l'analyte parmi un plus grand nombre de molécules de matrice. La cible la plus probable pour les projectiles est alors une molécule de matrice; puisque sous impact, il y a création d'espèces réactives qui pourraient potentiellement participer de manière active aux procédés de réduction, un plus grand nombre de molécules de matrice irradiées se traduit nécessairement par une quantité accrue d'espèces réactives, et donc à un degré de réduction plus élevé. Au fur et à mesure qu'augmente la concentration, la distribution des molécules en surface change; l'environnement de l'analyte ne se compose plus d'autant de molécules de matrice, entraînant ainsi une diminution du degré de réduction. Au-delà d'une certaine concentration, l'analyte sature complètement la surface et alors le degré de réduction plafonne. Une estimation grossière du ratio matrice-analyte en surface est obtenue en établissant le rapport du signal de l'ion moléculaire de l'analyte sur celui de la matrice obtenu dans les spectres de masse. À titre d'exemple, la Figure 4.5 présente le ratio matrice-analyte obtenu pour une série de solutions ayant des concentrations différentes de rhodamine dans le glycérol. Ce ratio calculé ne tient pas compte de la formation de dimères et autres agrégats. Les données présentées sont semblables à celles obtenues pour nos deux autres analytes. Quoique l'allure des données présente une tendance similaire à celle obtenue pour les procédés Red<sub>2</sub> de la rhodamine, elle est toutefois peu représentative des procédés Red<sub>1</sub>. De plus, ces données traduisent essentiellement la composition de la surface mais non la distribution de l'analyte dans la gouttelette.

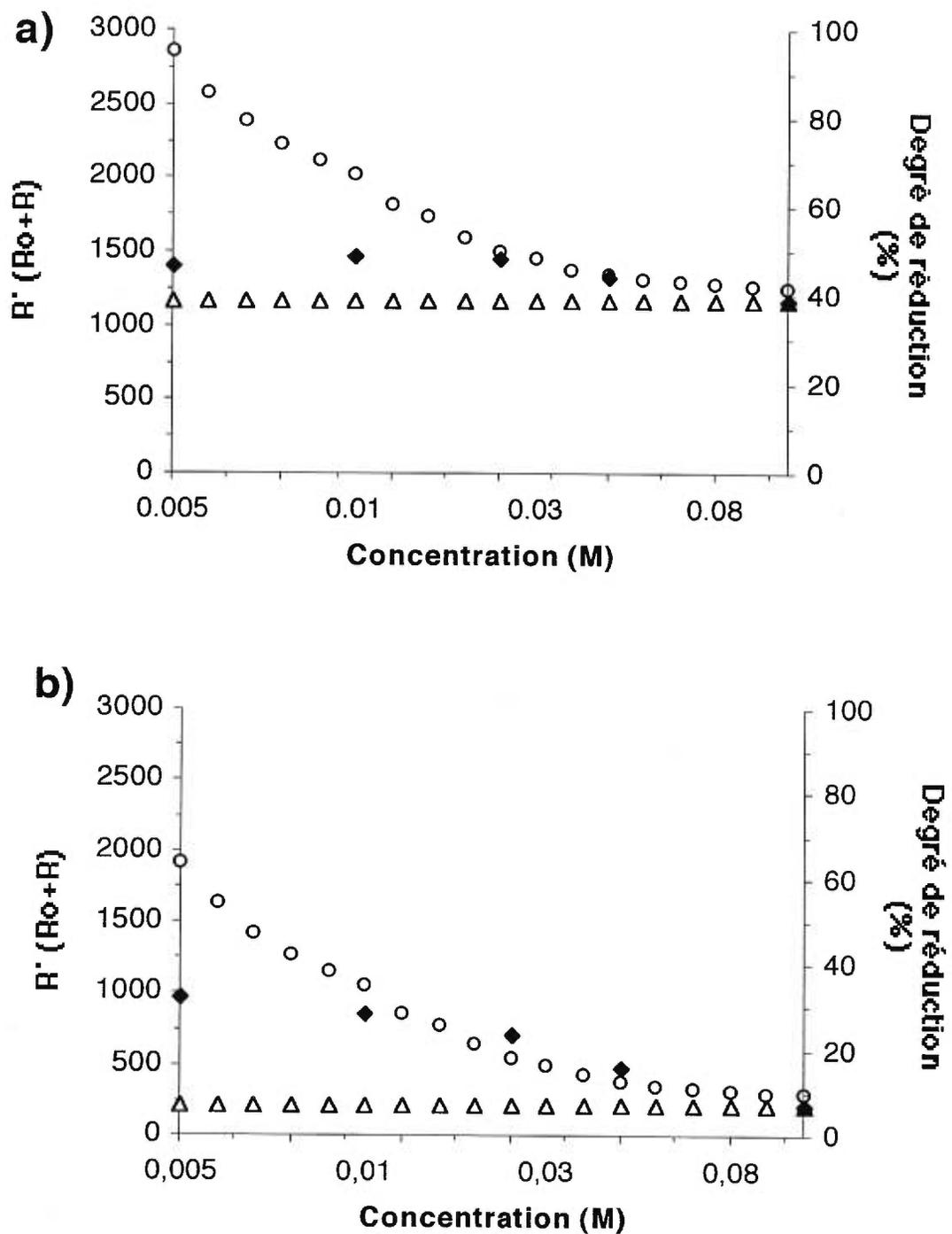


**Figure 4.5 : Ratio matrice-analyte pour des solutions glycéroliques de rhodamine. (22 kV, 1,5  $\mu$ A)**

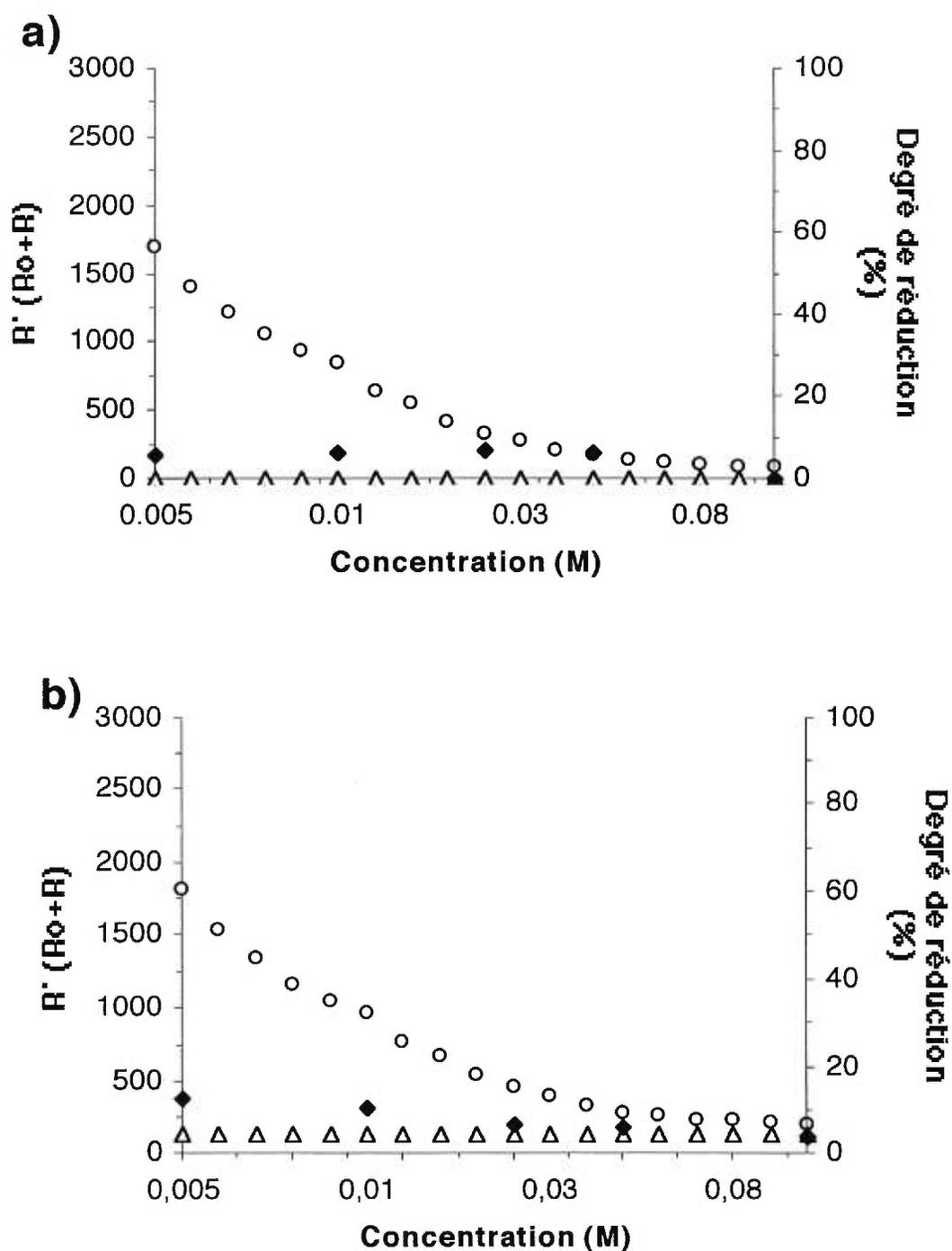
Pour arriver à saisir la signification derrière les différentes allures de ces mêmes données obtenues pour des peptides, Visentini et al.<sup>41- 42</sup> proposent deux modèles, soit celui de la distribution uniforme de l'analyte en solution et celui d'un enrichissement en surface de l'analyte. Ces modèles décrivent de manière mathématique la dispersion de l'analyte dans la gouttelette. Pour ce faire, les auteurs calculent tout d'abord un rapport (R) qui définit la proportion de molécules de matrice versus les molécules d'analyte dans la gouttelette, pour les deux modèles. Une corrélation est ensuite dégagée entre ce rapport R et la concentration de l'analyte en solution en mole L<sup>-1</sup>. Le développement mathématique des modèles est présenté à l'Annexe I.

Ces deux séries de données théoriques obtenues ont un aspect très différent; alors que la concentration n'affecte pas le rapport R pour le modèle d'enrichissement de surface, elle affecte de manière significative le rapport R pour le modèle de distribution uniforme, donnant une allure semblable à celles obtenues expérimentalement. Il est donc possible, en comparant les données théoriques aux données expérimentales, de montrer l'importance de la distribution de l'analyte sur les procédés de réduction réels.

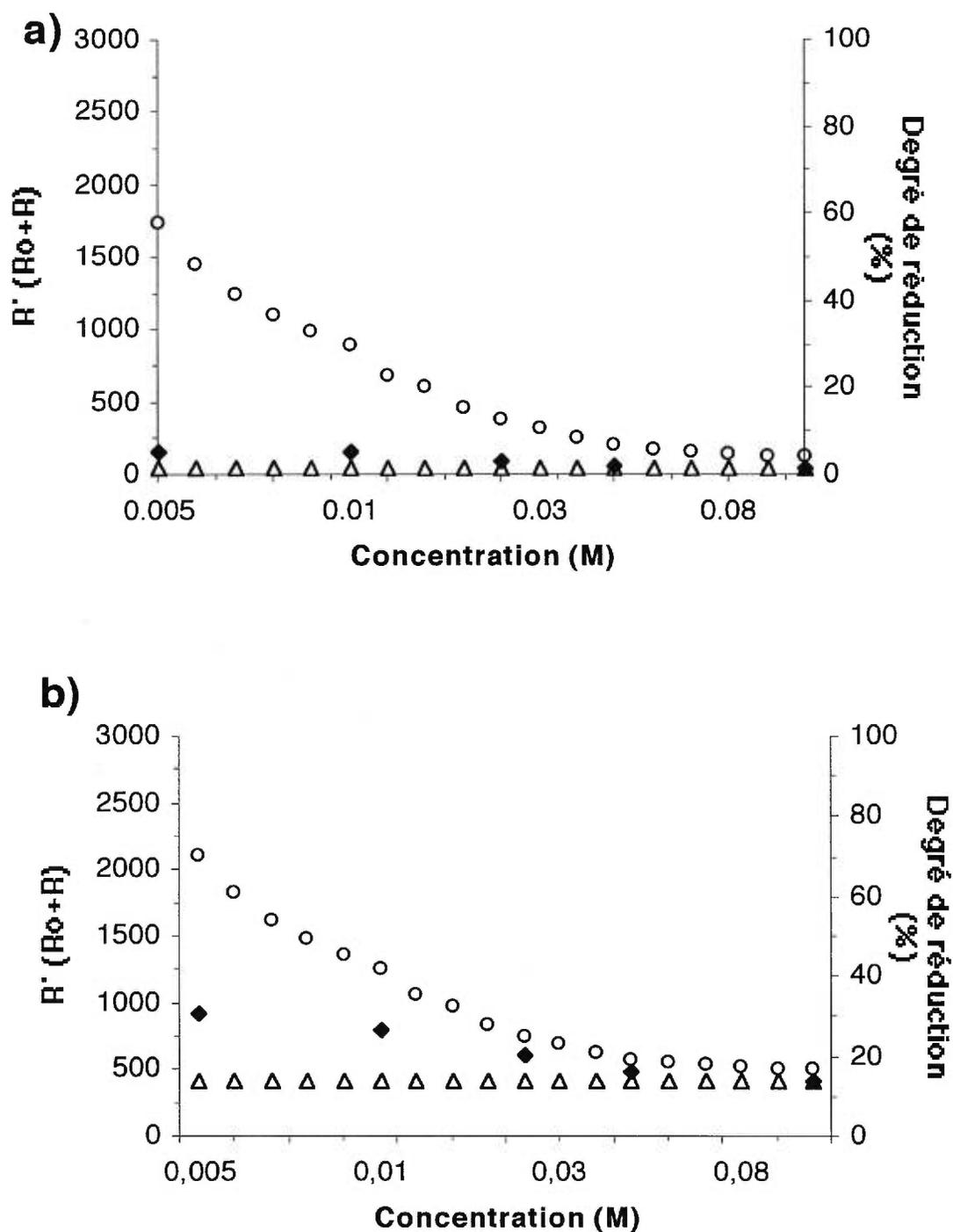
Les Figures 4.6, 4.7 et 4.8 présentent la corrélation entre les modèles théoriques de distribution de l'analyte en solution et les données obtenues expérimentalement pour le bleu de méthylène, le cristal violet et la rhodamine respectivement, pour les deux procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> en fonction de la concentration. L'examen de la Figure 4.6 révèle que le procédé Red<sub>1</sub> semble prendre place plutôt dans les couches en surface, alors que Red<sub>2</sub> nécessite plus de couches pour la formation des espèces (M+2H)<sup>+</sup>, qui prend donc naissance plus profondément dans la solution. L'aspect des données de concentration des deux procédés réels pour le cristal violet présentes une différence peu marquée, mais la même conclusion s'impose que pour le bleu de méthylène. Le même comportement se révèle pour les procédés réels de la rhodamine, tel que démontré dans la Figure 4.8.



**Figure 4.6 : Comparaison du modèle homogène (o) et d'enrichissement de surface ( $\Delta$ ) avec les procédés réels( $\blacklozenge$ ) a) Red<sub>1</sub>, et b) Red<sub>2</sub> pour MB/GLY (14 keV, 1,5  $\mu$ A)**



**Figure 4.7 : Comparaison du modèle homogène (o) et d'enrichissement de surface (Δ) avec les procédés réels(◆) a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour le système VL/GLY (14 keV, 1,5 μA)**



**Figure 4.8 : Comparaison du modèle homogène (o) et d'enrichissement de surface (Δ) avec les procédés réels(♦) a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour le système RH/GLY (14 keV, 1,5 μA)**

Quoique les trois figures révèlent que le bleu de méthylène sature moins la surface que les deux autres pigments, une conclusion commune aux trois analytes peut être énoncée; le procédé Red<sub>1</sub> prend naissance plus en surface alors que plusieurs couches participent à la formation du procédé Red<sub>2</sub>.

#### 4.1.3 Présence d'additifs

Parce que la déformation de la signature isotopique d'un analyte par les procédés de réduction peut mener à des erreurs d'interprétation, il existe dans la littérature un éventail de moyens d'enrayer la formation d'espèces réduites. Outre le contrôle des paramètres instrumentaux et le choix de la matrice ou de la concentration de l'analyte, une autre méthode consiste à introduire des additifs dans la solution. Quoique ces derniers puissent s'avérer efficaces, il n'en demeure pas moins que leur action est parfois de courte durée, ou alors leur présence complique considérablement le spectre de masse.

L'usage de sels métalliques pour enrayer les procédés de réduction a fait l'objet de quelques publications<sup>36, 39, 48</sup>. La philosophie derrière cette pratique consiste à introduire dans le système un additif susceptible de réagir plus favorablement avec les électrons ou les radicaux produits sous bombardement que l'analyte. En supposant que ces espèces réactives jouent un rôle important dans les mécanismes de réduction, la capture de celles-ci semble être une clé importante dans l'inhibition du procédé. Murthy et al.<sup>36, 48</sup> observent que la concentration des sels métalliques en solution ainsi que leur nature ont un effet marqué sur la réduction apparente d'une série de pigments organiques.

Les résultats obtenus pour les procédés réels démontrent aussi que l'ajout de sel métallique enraie efficacement la réduction. Le Tableau 4.6 expose l'effet inhibiteur du FeCl<sub>3</sub> en concentrations diverses sur les deux

**Tableau 4.6 : Suppression des procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> par l'ajout de FeCl<sub>3</sub> à une solution 0,005M a) MB-GLY b) RH-GLY (14 keV, 1,5 µA)**

a)

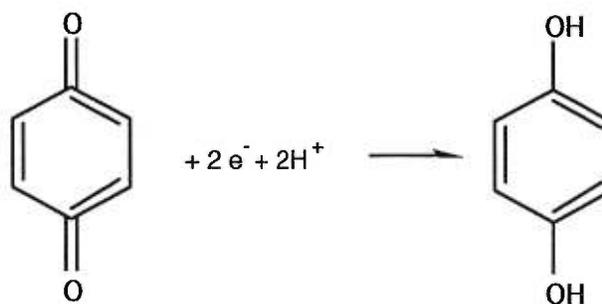
	FeCl <sub>3</sub>			
	sans additif	20 µg/µl	40 µg/µl	100 µg/µl
<b>Red<sub>1</sub></b> (%)	44,3	34,8	23,4	18,0
<b>Red<sub>2</sub></b> (%)	39,0	13,7	4,5	3,8

b)

	FeCl <sub>3</sub>			
	sans additif	20 µg/µl	40 µg/µl	100 µg/µl
<b>Red<sub>1</sub></b> (%)	5,2	4,7	2,4	0
<b>Red<sub>2</sub></b> (%)	31,0	4,4	2,2	0

procédés de réduction Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub>. Tel que présenté, l'ajout de FeCl<sub>3</sub> est plus efficace pour l'inhibition de la réduction de la rhodamine; par exemple, 20 µg/µL de cet additif contribuent à un degré de réduction Red<sub>2</sub> plus de dix fois moins élevé pour RH alors qu'une même concentration de FeCl<sub>3</sub> ne contribue qu'à inhiber de 50% le même procédé de réduction pour MB. Une simple réaction rédox entre FeCl<sub>3</sub> et notre analyte peut expliquer cette inhibition. Par ailleurs, la chimie de la radiolyse nous informe que la réduction des ions métalliques Fe<sup>3+</sup> peut aussi bien mettre en jeu une capture électronique simple qu'un transfert électronique intermoléculaire avec un radical; par conséquent, la présence de cette espèce pourrait permettre éventuellement de court-circuiter tous procédés mettant en jeu ces espèces réactives. Il n'est donc pas possible sur la base de ces résultats de cerner le rôle distinctif des espèces réactives potentiellement responsables des deux procédés de réduction à l'étude.

Deux autres additifs ont été utilisés par Agnello et al.<sup>102</sup>, soit la p-benzoquinone (PB) et l'acide camphorsulfonique (CSA) pour inhiber la réduction apparente observée dans le spectre du bleu de méthylène. Les textes de chimie organique font souvent mention de la réaction connue de la p-benzoquinone pour donner l'hydroquinone, réaction initiée par la capture successive d'électrons. Il n'est donc pas surprenant de proposer l'ajout de ce composé organique aux solutions susceptibles de se réduire.



Le Tableau 4.7 présente les résultats obtenus pour les procédés réels de réduction en présence de p-benzoquinone pour une solution glycérolique de bleu de méthylène. Il semble que la p-benzoquinone affecte de manière significative les deux procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub>, quoique l'effet n'ait pas la même envergure pour les deux procédés; l'ajout de 13 µg/µL de PB engendre une baisse de 46.2% à 31.6% pour le procédé Red<sub>1</sub>, alors que Red<sub>2</sub> passe de 27.0% à 5.1%.

**Tableau 4.7 Suppression des procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> par l'ajout de PB à une solution 0,005M MB-GLY (14 keV, 1,5 µA)**

	PB		
	sans additif	7 µg/µl	13 µg/µl
<b>Red<sub>1</sub></b> (%)	46,2	39,5	31,6
<b>Red<sub>2</sub></b> (%)	27,0	10,9	5,1

Agnello suggère également l'ajout d'acide camphorsulfonique, un composé tensio-actif, comme deuxième méthode pour contrer les procédés de réduction. C'est justement l'activité de surface de ce composé qui fait dire à l'auteur que l'usage de CSA peut modifier la proportion de matrice à la surface, et donc inhiber la réduction. En remplaçant la matrice en surface, CSA pourrait limiter la proportion de molécules de matrice susceptibles d'être la cible des projectiles. Mais le caractère acide du CSA et la présence sur sa structure d'un groupe sulfonique capable d'agir à titre de "piège à radicaux/électrons" peuvent aussi jouer un rôle non négligeable dans l'inhibition des procédés induits par bombardement. La corrélation proposée par l'auteur entre la suppression des procédés de réduction et le caractère surfactant du CSA est donc équivoque. Soulignons aussi que la forte corrélation entre l'activité de surface et le signal ionique en LSIMS/FAB est très bien documentée <sup>72, 125-128</sup>, mais l'explication quant à l'importance de ce

paramètre n'est pas claire, puisque la couche de surface est rapidement érodée par le bombardement et que le transport par diffusion de l'analyte vers la surface est lent <sup>129</sup>.

Le Tableau 4.8 expose les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> obtenus pour des solutions glycéroliques des trois analytes en présence de différentes concentrations d'acide camphorsulfonique. L'examen des résultats de ce tableau révèle que la suppression des procédés de réduction par le CSA est de courte durée, menant à des degrés de réduction variables dans le temps.

De plus, pour une concentration de 112 µg/µL de CSA en solution, la qualité des spectres n'est pas toujours adéquate; ceci s'explique par la saturation de la surface par le CSA, ce qui rend le signal de l'analyte instable.

L'ajout de CSA aux solutions permet tout de même de supprimer brièvement le degré réel de réduction, et ce, pour le bleu de méthylène et la rhodamine, quoique l'effet soit non significatif pour le cristal violet. Un fait intéressant se dégage pour le bleu de méthylène; en effet, l'analyse sans additif donne un procédé de réduction Red<sub>1</sub> qui ne donne pas de dépendance de temps significative. Or, l'ajout de CSA induit une dépendance de ce procédé au temps, et cette dépendance est d'autant plus grande que la concentration de CSA est importante. Cela semble indiquer que l'effet de temps des procédés de réduction est relié à la concentration en surface de l'analyte. Cette conclusion corrobore l'étude de Paul et al.<sup>59</sup> qui observe une dépendance de temps pour les acétals cycliques ayant une tension de surface moindre. Les auteurs en concluent qu'une des composantes expliquant cet effet pourrait être le temps requis aux espèces induites sous bombardement pour atteindre la surface.

**Tableau 4.8 : Suppression des procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> par l'ajout de CSA à des solutions glycéroliques 0,005M de MB, VL et RH (14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

		sans additif		CSA			
				7 $\mu$ g/ $\mu$ L		112 $\mu$ g/ $\mu$ L	
%		t = 5 sec	t = 2 min	t = 5 sec	t = 2 min	t = 5 sec	t = 2 min
<b>MB</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	44,0	45,8	22,2	37,0	12,8	46,8
	<b>Red<sub>2</sub></b>	26,2	38,5	12,3	34,8	2,9	28,4
<b>VL</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	3,2	5,8	3,4	6,7	6,6	5,0
	<b>Red<sub>2</sub></b>	4,9	12,4	2,4	19,2	11,4	18,3
<b>RH</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	3,9	4,8	1,6	1,6	2,1	4,4
	<b>Red<sub>2</sub></b>	12,6	28,0	1,9	6,0	3,1	18,4

Un autre fait intéressant peut être noté en comparant les résultats obtenus pour le bleu de méthylène avec 7  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de CSA (voir Tableau 4.8) et ceux obtenus avec 7  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  de PB (voir Tableau 4.7).

Il semble que l'acide camphorsulfonique supprime plus efficacement le procédé  $\text{Red}_1$  ( $\text{Red}_1^{\text{CSA}}$  22,2%) que la p-benzoquinone ( $\text{Red}_1^{\text{PB}}$  39,5%). Le caractère tensio-actif de CSA inhibera plus efficacement ce procédé, puisque ce dernier prend naissance en surface (voir Figure 4.6). Ceci corrobore les résultats de Théberge et al.<sup>155</sup>, qui observent que les procédés induits par le bombardement se produisent en surface et donc, qu'une concentration moindre de l'analyte en surface mène à moins d'espèces réduites.

Il est possible de vérifier si c'est bien le caractère tensio-actif du CSA qui est responsable de sa capacité à inhiber efficacement les procédés réels de réduction tel que le suggèrent Agnello et al.<sup>102</sup>. S'il existe une corrélation entre le caractère inhibiteur d'un additif et son activité de surface, l'emploi d'un autre surfactant non-inhibiteur de réduction devrait également réduire de façon significative les procédés de réduction. Le dodécylsulfate de lithium (LDS), un surfactant anionique, a été choisi parce qu'il n'est pas acide et ne possède pas de groupe fonctionnel susceptible d'enrayer de manière efficace les espèces réactives. Les résultats obtenus pour des solutions glycéroliques de cristal violet et rhodamine contenant 0,01M de LDS sont présentés dans le Tableau 4.9.

Il semble qu'effectivement, l'ajout d'un surfactant ait un impact sur la réduction, puisque l'ajout de LDS se traduit par un degré de réduction  $\text{Red}_n$  moindre que dans la matrice sans additif. Ces résultats corroborent l'hypothèse proposée par Théberge et al.<sup>155</sup>. Les auteurs notent que l'effet de l'ajout de LDS sur les procédés de déhalogénéation dépend de la charge de l'analyte; pour une espèce cationique, comme c'est le cas ici, l'ajout de LDS

**Tableau 4.9 : Effet de l'addition de dodécylsulfate de lithium (LDS, 0,01M) sur les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> des solutions glycéroliques 0,005M de VL et RH (14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

		t = 2.5 minutes	
		RED <sub>1</sub> (%)	RED <sub>2</sub> (%)
<b>RH</b>	<b>sans additif</b>	5,8	35,6
	<b>avec LDS</b>	3,9	26,4
<b>VL</b>	<b>sans additif</b>	5,8	12,6
	<b>avec LDS</b>	1,6	9,0

inhibe la déhalogénéation de manière significative pour des analytes de la famille de la chlorpromazine. Ceci s'explique par la distribution de l'analyte relativement à la formation d'une couche de Stern par le surfactant. Cette couche est composée des terminaisons négatives du surfactant orientées vers le coeur de la gouttelette, formant ainsi une région hydrophobe en surface par la chaîne d'hydrocarbures. Les analytes cationiques se trouveront préférentiellement sous cette couche de Stern, par l'établissement d'interactions électrostatiques entre les terminaisons négatives des molécules de surfactant et l'analyte cationique. Cela signifie que la concentration en surface de l'analyte est moindre. Puisque nous notons une diminution des procédés induits par le bombardement en présence de LDS, ces résultats appuient d'avantage l'hypothèse que ces procédés sont engendrés près de la surface, où les espèces réactives sont engendrées. Il faut mentionner que les

résultats obtenus avec LDS démontrent un effet du temps d'irradiation significatif sur les procédés  $Red_n$ , ce qui corrobore que l'effet de temps provient de la migration des espèces vers la surface. L'inconvénient relié à l'usage de surfactants est la nécessité de faire une étude pour chaque système afin de déterminer la quantité optimale requise pour produire des résultats adéquats. Une autre façon d'altérer la concentration des analytes en surface est l'utilisation d'une matrice ayant une tension de surface différente; ainsi il est possible de vérifier si la composition de la surface a une influence sur les procédés de réduction.

Le glycérol, un triol, possède une tension de surface élevée qui découle de sa structure symétrique et des ponts hydrogène intermoléculaires. Sa tension de surface est en fait très similaire à celle de l'eau, soit  $63 \text{ dyn cm}^{-2}$  alors que celle de l'eau est de  $72 \text{ dyn cm}^{-2}$  <sup>130</sup>. Aux faibles concentrations, les solutions glycéroliques de nos analytes donnent un signal moléculaire élevé, ce qui témoigne de la grande concentration en surface de l'analyte. Cet enrichissement de la surface est favorisé du point de vue énergétique, en ce sens qu'il diminue la tension de surface. La substitution d'une matrice qui possède une activité de surface inférieure à celle du glycérol devrait engendrer une moindre concentration en surface de l'analyte. Le choix s'est porté sur le 1,2,6-hexanetriol (HEX), un triol qui possède une chaîne alkyle analogue à celle du glycérol (voir Tableau 3.2); tout en possédant une tension de surface moindre, cette matrice devrait être la source d'une chimie radiative sous bombardement semblable à celle du glycérol.

Le spectre de masse de cette nouvelle matrice est de fait très similaire à celui du glycérol, puisqu'il se compose essentiellement de l'ion moléculaire et d'ions agglomérats. Des solutions de différentes concentrations de bleu de méthylène, le pigment qui se réduit le plus aisément, dans l'hexanetriol ont été analysées et les signaux déconvolués. À prime abord, le signal de l'analyte est significativement plus faible dans la matrice d'hexanetriol que dans le

glycérol pour une même concentration, témoignant comme prévu d'une population inférieure de l'analyte en surface. Comme en témoignent les résultats du Tableau 4.10, les procédés de réduction sont un peu plus importants dans le glycérol. Ces résultats corroborent ceux de Théberge et al.<sup>155</sup> ; les auteurs observent également qu'une diminution de la concentration de surface de l'analyte par l'emploi de l'hexanetriol, se traduit par une diminution des procédés de déhalogénéation.

Ces résultats traduisent encore une fois que les procédés induits par le bombardement se produisent près de la surface, où les concentrations des espèces réactives générées par le faisceau et de l'analyte sont le plus élevées. Puisque nos résultats vérifient le postulat de Théberge et al.<sup>155</sup> pour la déhalogénéation, il semble donc que cette proposition s'applique de manière générale aux réactions induites par le faisceau en LSIMS/FAB.

**Tableau 4.10 : Procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> de MB pour des solutions de diverses concentrations dans le glycérol et l'hexanetriol (14 keV, 1,5 µA)**

M	Red <sub>1</sub> (%)		Red <sub>2</sub> (%)	
	GLY	HEX	GLY	HEX
<b>0,005</b>	44,3	41,0	39,0	16,6
<b>0,025</b>	45,7	35,2	21,0	10,4
<b>0,05</b>	41,0	33,2	9,8	8,3
<b>0,1</b>	29,8	29,5	3,0	6,7

## 4.2 Paramètres physiques

### 4.2.1 Temps d'irradiation

Tout spectre en LSIMS/FAB varie avec le temps d'irradiation, alors que l'intensité des ions varie mais pas nécessairement l'aspect du spectre. C'est en fait la consommation graduelle de la matrice qui est responsable de ce comportement. Habituellement, il y a variation de l'intensité du signal au fur et à mesure que la matrice est consommée; puisque la matrice sert à régénérer la surface en analyte, une diminution progressive de ce support mène à une diminution du signal de l'analyte.

Comme exposé précédemment, il semble que plusieurs procédés de réduction sont aussi dépendants du temps d'irradiation<sup>36, 48, 50, 59, 86, 100-102</sup>. Il existe aussi des études qui ne considèrent que les spectres obtenus après quelques minutes de bombardement, une fois le signal stable.

Aux faibles concentrations employées dans notre étude (0,005M), il existe une variation significative des pics satellites de l'ion moléculaire  $[M+1]^+$  et  $[M+2]^+$  dans le glycérol, surtout pour le bleu de méthylène. Alors que les pics  $[M+1]^+$  et  $[M+2]^+$  de la rhodamine montrent une légère variation de leurs intensités avec le temps, les pics  $[M+1]^+$  et  $[M+2]^+$  du cristal violet ne varient pas de manière significative. Cet effet de temps suggère un procédé prenant place en phase condensée, puisqu'il est difficile d'expliquer un effet pareil en évoquant une réaction en phase gazeuse.

Le Tableau 4.11 expose les procédés de réduction déconvolués pour une solution 0,005M de bleu de méthylène dans le glycérol. Afin de faciliter la comparaison, les degrés apparents de réduction ( $Red_n^{app}$ ) sont aussi inclus. Les résultats démontrent que le temps d'irradiation affecte de manière importante les deux procédés apparents de réduction; par exemple,  $Red_1^{app}$

**Tableau 4.11 : Variation des procédés de réduction avec le temps d'irradiation d'une solution glycérolique 0,005M de bleu de méthylène. (14 keV, 3  $\mu$ A)**

<b>Temps*</b> (sec)	<b>Red<sub>0</sub></b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	<b>Red<sub>2</sub></b> (%)	<b>Red<sub>1</sub><sup>app</sup></b>	<b>Red<sub>2</sub><sup>app</sup></b>
30	31,7	42,5	25,5	135,4	106,4
100	28,3	42,2	28,8	147,4	128,8
150	24,9	42,7	31,9	168,8	157,8
200	23,1	43,3	33,2	183,7	175,3
250	23,7	42,8	33,1	176,6	169,7
300	19,6	43,6	36,7	215,7	221,3

\* Temps où sont effectuées les mesures

- Red<sub>n</sub><sup>app</sup> : Degré de réduction apparente calculé en utilisant la différence entre la valeur observée et la valeur théorique de A+n/A (%)
- Red<sub>1</sub>, Red<sub>2</sub> : Degré de réduction correspondant à la formation de (M+H)<sup>+</sup> et (M+2H)<sup>+</sup> respectivement
- Red<sub>0</sub> : Ion moléculaire intact

subit une hausse d'une fois et demie alors que  $\text{Red}_2^{\text{app}}$  double au cours de l'irradiation.

Toutefois, l'examen des procédés réels révèle que la hausse de la réduction découlant de l'irradiation continue n'est pas aussi importante que la hausse rapportée par les procédés apparents. De plus, il semble que la sensibilité des procédés réels au temps d'irradiation est différente; alors que  $\text{Red}_1$  ne démontre pas d'augmentation significative au cours de l'analyse,  $\text{Red}_2$  croît de 25,5% à 36,7%. Quant à l'ion moléculaire intact, on voit qu'il subit une diminution importante durant l'analyse, passant de 31,7% à 19,6%.

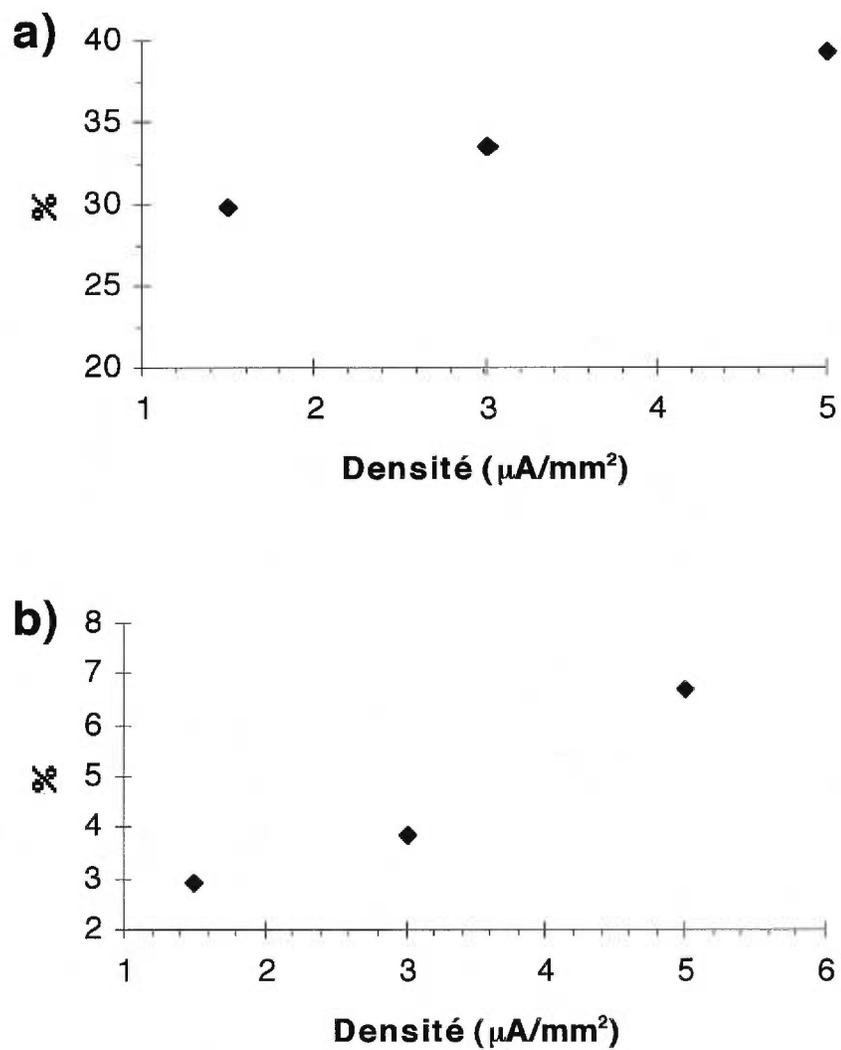
L'importante réduction signifiée par les procédés calculés par SIMBROC est accompagnée par une décoloration de la solution qui subsiste sur la cible après le bombardement, ce qui suggère une diminution de l'espèce non-réduite ( $\text{MB}^+$  = couleur bleue). Il existe plusieurs interprétations dans la littérature reliées à la dépendance de temps d'irradiation des spectres LSIMS/FAB. Les explications proposées mentionnent l'activité de surface, l'émission hétérogène des ions échantillonnés, l'évaporation de la matrice, l'accumulation d'espèces réactives au coeur de la solution ou la cinétique d'une réaction induite par le bombardement comme éléments responsables de cet effet de temps<sup>59, 125, 132-134</sup>. Nous avons vu à la section 4.1.3 que les résultats obtenus avec le CSA indique que l'effet de temps est relié à la migration vers la surface des espèces. De plus, à la lumière de la comparaison des données expérimentales aux données théoriques des modèles de distribution de l'analyte en solution en fonction de la concentration (section 4.1.2), il appert que la formation de  $\text{Red}_1$  s'effectue en surface, alors que l'espèce  $\text{Red}_2$  prend naissance plus profondément dans la solution. Il est donc cohérent que le procédé prenant naissance plus en profondeur démontre une dépendance de temps d'irradiation.

Pour expliquer que nos trois analytes n'affichent pas une dépendance similaire au temps d'irradiation, il convient d'examiner les figures 4.6, 4.7 et 4.8. Les données de ces trois figures indiquent qu'une augmentation de la concentration se traduit par un enrichissement de la surface progressif, puisque les deux séries de données théoriques des modèles se rejoignent. C'est ce qui explique que la dépendance de temps d'irradiation observée disparaît lorsque la concentration est augmentée. Pour ce qui est du cristal violet (Figure 4.7), le procédé Red<sub>2</sub> se produit déjà très près de la surface aux faibles concentrations, comparativement aux deux autres analytes, ce qui explique l'effet négligeable du temps d'irradiation sur ce procédé pour cet analyte.

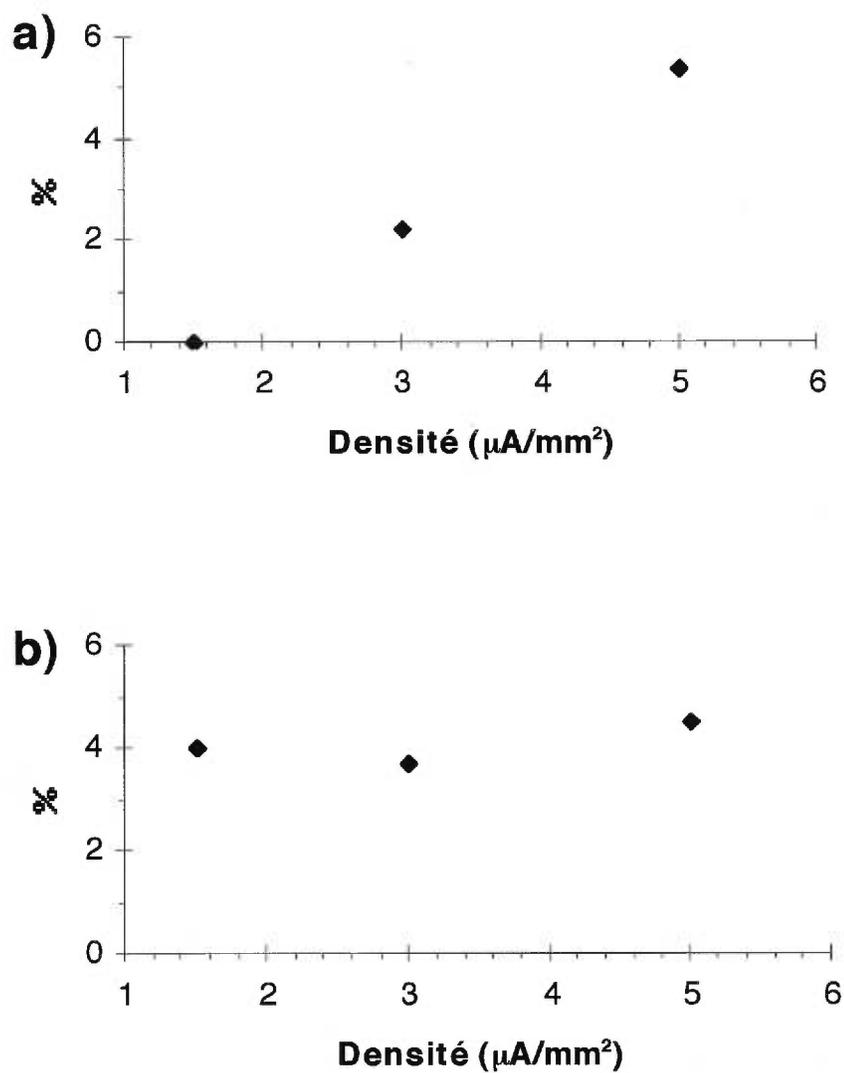
#### **4.2.2 Densité du faisceau**

Tel que vu au deuxième chapitre, la littérature rapporte qu'une augmentation de la densité du faisceau primaire résulte en une augmentation proportionnelle des procédés de réduction apparents. À prime abord, cette observation est cohérente avec une augmentation des espèces réactives produites sous bombardement pour une plus grande quantité de projectiles atteignant la cible par unité de surface. Il faut cependant s'assurer que cette tendance découle effectivement de procédés rédox accrus et n'ont pas d'un signal de fond plus important. En effet, pour ce qui est de solutions diluées, une augmentation de la densité des particules bombardantes se traduit par une plus grande proportion de molécules de la matrice échantillonnées par le faisceau, et par le fait même, mène à une diminution du rapport signal/bruit.

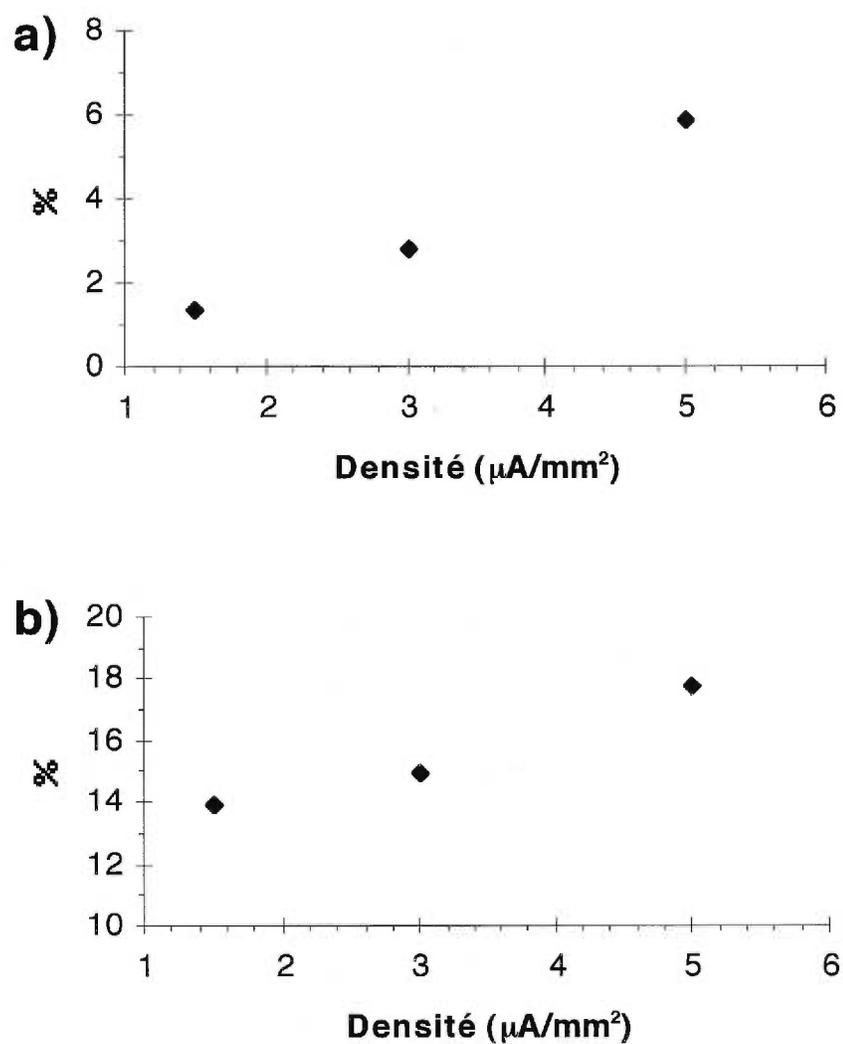
Afin de vérifier la véritable influence de la densité du faisceau sur les procédés de réduction réels, des solutions glycéroliques de diverses concentrations ont été soumises à des densités de faisceaux différentes. Les Figures 4.9, 4.10 et 4.11 présentent des résultats typiques et exposent l'effet



**Figure 4.9** : Effet de la densité du faisceau sur a)  $\text{Red}_1$ , et b)  $\text{Red}_2$ , pour une solution glycérolique 0,1M de bleu de méthylène. (14 keV, 1,5  $\mu\text{A}$ )



**Figure 4.10** : Effet de la densité du faisceau sur a)  $\text{Red}_1$  et b)  $\text{Red}_2$  pour une solution glycérolique 0,1M de cristal violet. (14 keV, 1,5  $\mu\text{A}$ )



**Figure 4.11** : Effet de la densité du faisceau sur a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour une solution glycérolique 0,1M de rhodamine. (14 keV, 1,5  $\mu\text{A}$ )

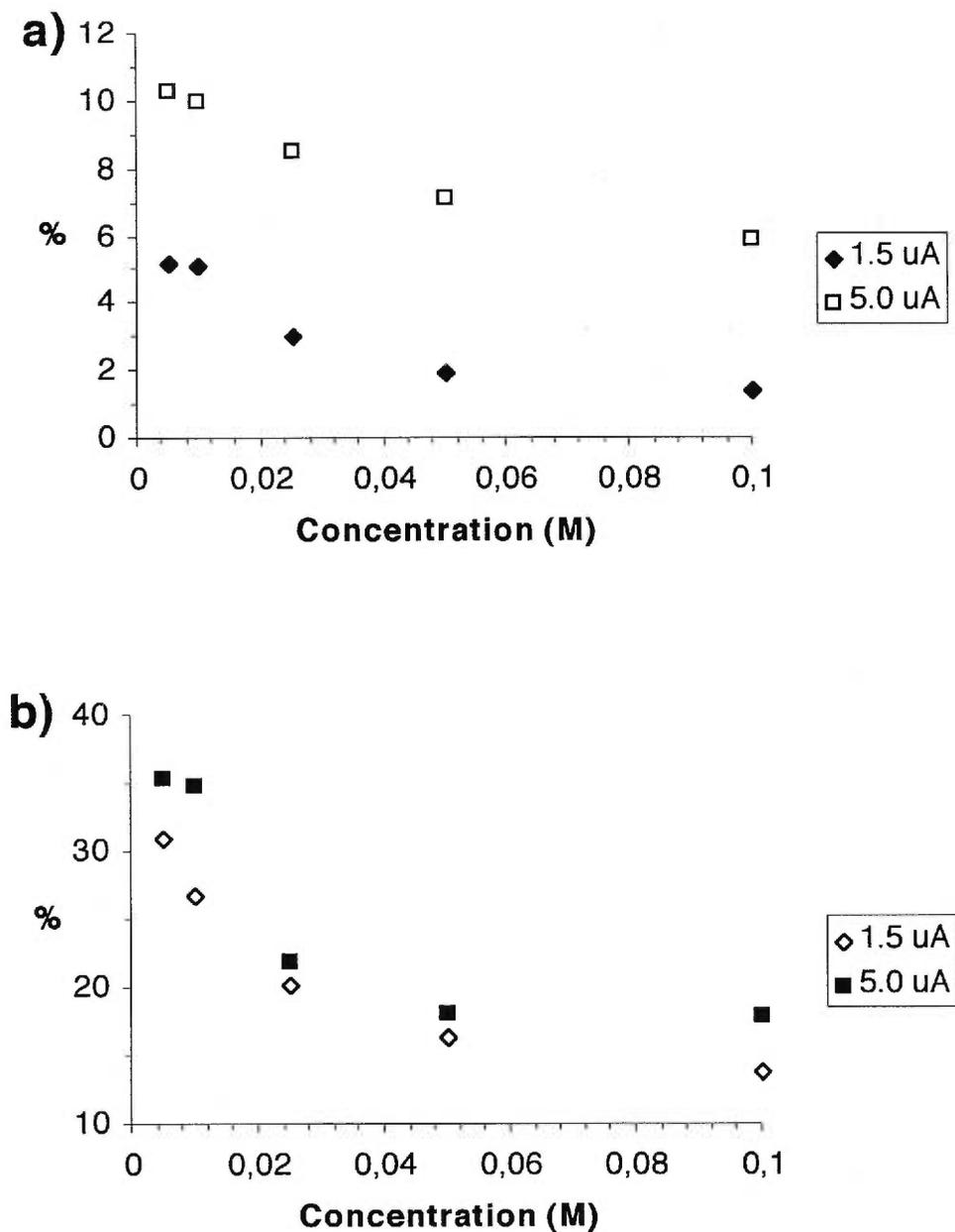
**Tableau 4.12 : Équations du premier et second degré pour la corrélation entre la densité du faisceau et les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> des trois analytes (0,1M, glycérol, 14 keV, 1,5 μA)**

		Premier Degré	Deuxième Degré	Figure
<b>MB</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	$y = 2,7541x - 25,512 \quad r = 0,9988$	$y = 0,1381x^2 + 1,8452x + 26,721 \quad r = 1,000$	4.9
	<b>Red<sub>2</sub></b>	$y = 1,0903x + 1,0508 \quad r = 0,9787$	$y = 0,2324x^2 - 0,439x + 3,0857 \quad r = 1,000$	4.9
<b>VL</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	$y = 1,5459x - 2,3622 \quad r = 0,9997$	$y = 0,0381x^2 + 1,2952x - 2,0286 \quad r = 1,000$	4.10
	<b>Red<sub>2</sub></b>	$y = 0,1568x + 3,5703 \quad r = 0,6811$	$y = 0,1714x^2 - 0,9714x + 5,0714 \quad r = 1,000$	4.10
<b>RH</b>	<b>Red<sub>1</sub></b>	$y = 1,3x - 0,75 \quad r = 0,9912$	$y = 0,1762x^2 + 0,1405x + 0,7929 \quad r = 1,000$	4.11
	<b>Red<sub>2</sub></b>	$y = 1,1297x + 11,989 \quad r = 0,9866$	$y = 0,1905x^2 - 0,1238x + 13,657 \quad r = 1,000$	4.11

de la densité du faisceau sur les procédés réels  $Red_1$  et  $Red_2$  du bleu de méthylène, du cristal violet et de la rhodamine respectivement. L'augmentation de la densité du faisceau a effectivement un effet sur les deux procédés de réduction réels, et ce, pour les trois pigments analysés. Au Tableau 4.12, les équations de premier et second degré correspondant à ces graphiques sont rapportées, pour les trois pigments et les deux procédés réels de réduction. Ce tableau indique que l'équation du second degré pour les trois analytes et les deux procédés de réduction affiche un coefficient de corrélation de  $R = 1,000$ , quoique le coefficient  $R$  pour l'équation du premier degré est aussi relativement bon; il semble donc que la corrélation entre la densité du faisceau et les procédés de réduction se situe entre l'ordre 1 et l'ordre 2. Bien que l'équation ne repose que sur trois points (1,5, 3,0 et 5,0  $\mu A$ ), il faut mentionner que chaque point représente la moyenne de 24 mesures et que le coefficient de variation est inférieur à 10%.

Puisqu'il a été établi que la densité du faisceau affecte de manière non négligeable la réduction que subit le système, il est possible que la dépendance à la concentration des procédés de réduction exposée à la section 4.1.2 soit aussi dépendante de la densité du faisceau. Pour fin de vérification, la Figure 4.12 présente la dépendance à la concentration des procédés réels  $Red_1$  et  $Red_2$  pour des solutions glycéroliques de rhodamine pour deux densités de faisceau, soit 1,5 et 5,0  $\mu A$ .

L'examen de cette figure révèle que la dépendance à la concentration des deux procédés est toujours présente à une densité de faisceau supérieure, et ce pour les deux procédés. Il est intéressant de constater par ailleurs que la variation de la densité du faisceau primaire provoque une migration des valeurs de  $Red_1$  à toutes les concentrations, alors que les données  $Red_2$  obtenues aux deux densités sont assez similaires. De plus pour le procédé  $Red_1$ , la hausse du courant nominal semble produire un



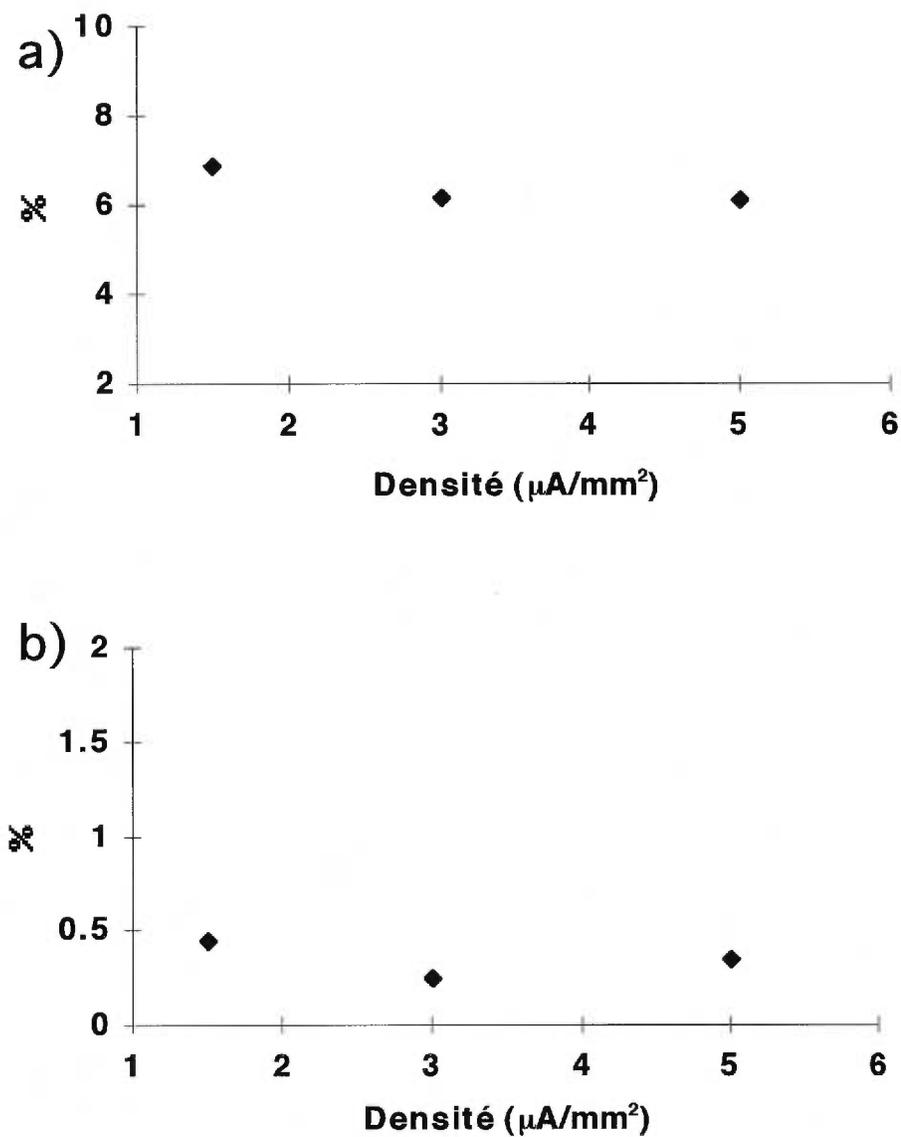
**Figure 4.12** : Effet de la densité du faisceau sur a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour des solutions de RH/GLY de différentes concentrations (14 keV, 1,5 et 5,0  $\mu$ A)

décalage relativement proportionnel entre les deux séries de données, et de manière égale tout au long de l'échelle de concentration. La capacité de la densité du faisceau à accroître les procédés réels de réduction a été exposée jusqu'à maintenant pour le glycérol, une matrice où les procédés de réduction sont importants. Il serait intéressant de vérifier si les matrices capables d'inhiber ces procédés perdent cette habilité aux densités de faisceau élevées. La Figure 4.13 présente les procédés de réduction réels obtenus à trois densités de faisceau pour le bleu de méthylène dans le NBA, une matrice qui limite efficacement le degré de réduction à toutes les concentrations.

Les résultats de cette figure vérifient que le NBA possède effectivement le pouvoir d'inhiber efficacement les deux procédés de réduction sur toute l'échelle des densités de faisceau, et ce pour l'analyte qui subit ordinairement le plus de réduction sous bombardement, le bleu de méthylène.

#### **4.2.3 Énergie du faisceau**

Les résultats rapportés par la littérature et mentionnés au deuxième chapitre stipulent que l'énergie du faisceau ne semble pas influencer la réduction observée pour une série de peptides<sup>33</sup> quoiqu'une étude<sup>35</sup> rapporte que la diminution de l'énergie du faisceau entraîne totalement la dépendance à la concentration de la réduction apparente pour le bleu de méthylène. Ce comportement du bleu de méthylène face à l'énergie s'il est véritable, pourrait témoigner d'une sensibilité accrue et caractéristique de cet analyte à l'énergie des projectiles. Afin de vérifier ceci, les procédés réels de réduction ont été obtenus pour des solutions glycéroliques de bleu de méthylène à deux énergies différentes, soit 5 et 14 keV, tout en gardant la densité du faisceau constante.



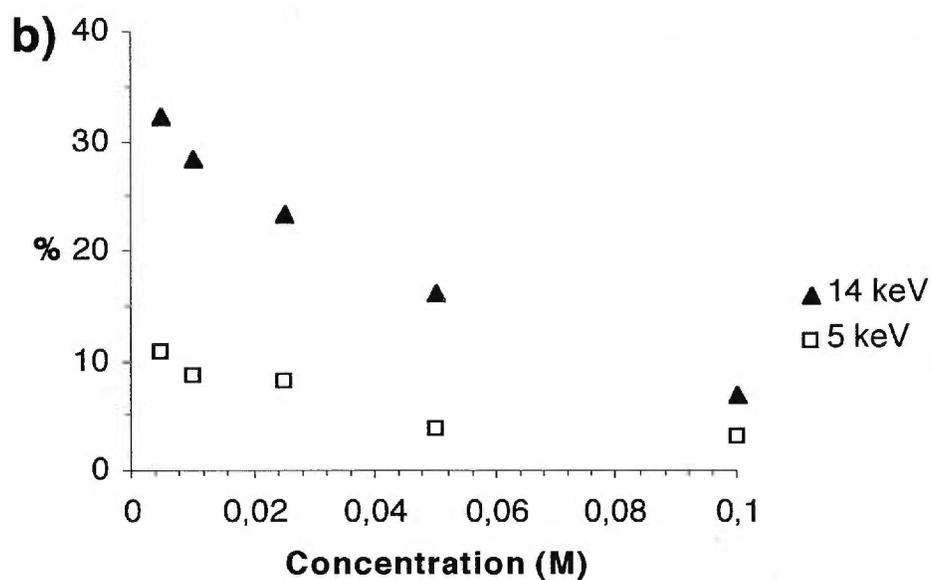
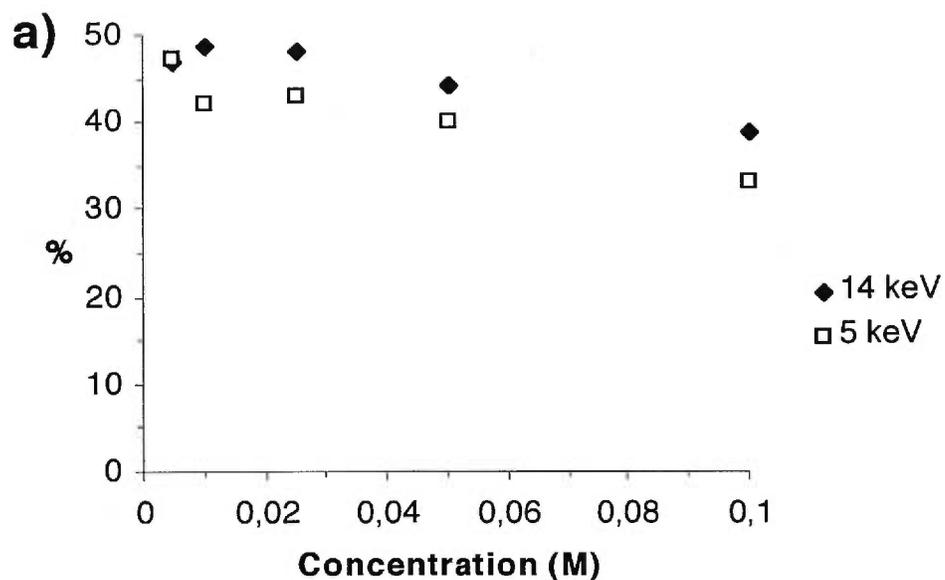
**Figure 4.13 : Effet de la densité du faisceau sur les procédés réels a) Red<sub>1</sub> et b) Red<sub>2</sub> pour des solutions de bleu de méthylène dans le NBA. (14 keV, 0,1M)**

Les résultats obtenus sont présentés à la Figure 4.14. Le profil du procédé Red<sub>1</sub> (Figure 4.14a) ne semble pas être affecté de manière significative par l'énergie que possèdent les projectiles, et ce, quelle que soit la concentration de l'analyte. Par contre, le profil du procédé Red<sub>2</sub> (Figure 4.14b) est affecté, entre autres à 0,005M, où une variation de l'énergie du faisceau de 5 à 14 keV occasionne une variation de près de 20% pour Red<sub>2</sub> (10% à 5 KeV contre 30% à 14 keV).

Ces résultats corroborent ceux obtenus pour une série de peptides<sup>33</sup> et sont cohérents puisque les énergies employées sont de beaucoup excédentaires au potentiel d'ionisation moyen des molécules organiques ( $\approx 10$  eV). Ces observations sont, en outre, en accord avec la conclusion de Reynolds<sup>40</sup> pour le bleu de méthylène, qui énonce qu'aux énergies supérieures à 5 keV, l'effet de l'énergie sur les facteurs d'accroissement de la réduction est minimal. Rappelons qu'un changement dans l'énergie du faisceau produit un effet sur la focalisation du faisceau.

Il semble donc que l'énergie du faisceau ne soit pas en cause pour expliquer l'allure de la série de données des procédés réels en fonction de la concentration de l'analyte en solution. La Figure 4.14b) indique également qu'une variation de l'énergie des projectiles ne se traduit pas par un effet équivalent à toutes les concentrations; il semble que l'influence de l'énergie soit inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte en solution. Cet état de fait est différent de celui exposé plus haut pour l'effet de la densité du faisceau sur la dépendance à la concentration (Figure 4.12), alors que la variation de ce paramètre se traduisait par un effet équivalent à toutes concentrations.

La variation de l'énergie du projectile affecte la profondeur de pénétration de celui-ci dans la gouttelette, et donc les procédés formés plus en profondeur, i.e. Red<sub>2</sub>, devraient être plus affectés par la variation de ce paramètre.



**Figure 4.14** : Effet de l'énergie des projectiles sur le profil des valeurs de a)  $Red_1$  et b)  $Red_2$  pour des solutions MB/GLY de différentes concentrations ( $3,0 \mu A$ , 14 et 5 keV)

Par contre, l'augmentation de la concentration de l'analyte en solution se traduisant par la formation de ces espèces de plus en plus près de la surface (section 4.1.2), il est à prévoir que l'augmentation de l'énergie aura moins d'effet aux plus grandes concentrations; c'est bien ce qu'on observe à la Figure 4.14 b.

En résumé, les résultats présentés dans ce chapitre exposent plusieurs faits intéressants. Tout d'abord, il semble que les divers paramètres expérimentaux affectent les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> de manières différentes, comportements pas toujours reflétés dans les données apparentes.

Il semble que les deux procédés ne sont pas initiés dans la même région de la gouttelette échantillonnée, et cette différence explique en partie, l'effet des divers paramètres expérimentaux sur les procédés réels de réduction. Par ailleurs, tous ces résultats ne nous permettent pas d'affirmer directement et avec certitude le rôle respectif des espèces réactives, électrons ou radicaux dans les procédés de réduction en LSIMS/FAB. Nous proposons au prochain chapitre, un modèle cinétique qui révèle le détail mécanistique pour les procédés Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub>, et qui colle parfaitement aux données expérimentales présentées jusqu'à présent.

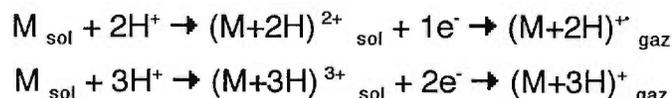
## **CHAPITRE 5**

### **VERS L'ÉBAUCHE D'UN MÉCANISME DE RÉDUCTION**

Quoiqu'elles nous permettent de faire le constat de plusieurs caractéristiques importantes du système qui subit la réduction, les tendances des procédés réels obtenus par SIMBROC jusqu'ici ne permettent pas la déduction du mécanisme réactionnel; par exemple l'espèce réduite observée n'est pas dépendante des étapes menant à sa formation.

Au seul examen des comportements des procédés  $\text{Red}_1$  et  $\text{Red}_2$  en fonction des diverses conditions expérimentales, il est difficile sinon impossible de distinguer clairement le mécanisme exact. Pour ce faire, il faut soumettre une hypothèse du détail mécanistique possible sous-jacent aux procédés de réduction et l'étayer à l'aide de plusieurs arguments. Par surcroît, il faut que cette hypothèse soit cohérente avec les résultats expérimentaux obtenus. La proposition d'un mécanisme plausible est l'objet de ce chapitre. L'approche préconisée pour l'ébauche d'un mécanisme consiste à s'appuyer sur des études dans d'autres champs d'activités, où des phénomènes analogues de réduction sont présents.

Effectuons tout d'abord un tour d'horizon de la littérature qui traite de la réduction en LSIMS/FAB: on y découvre un ensemble de mécanismes hypothétiques, reposant sur peu de données expérimentales et de surcroît, se basant sur des procédés de réduction apparent. Puisque la plupart des études en LSIMS/FAB ne possèdent pas suffisamment d'informations pour pouvoir proposer sans équivoque le mécanisme le plus probable, il arrive souvent que celles-ci proposent un mécanisme responsable de la génération des espèces  $(\text{M}+\text{H})^+$  et transpose ce mécanisme à la formation des espèces  $(\text{M}+2\text{H})^+$ . Ce faisant, on suppose que tous les ions réduits  $(\text{M}+n\text{H})^+$  proviennent d'un mécanisme unique. Par exemple, Cerny et Gross <sup>14</sup> proposent une multiprotonation des peptides étudiés, suivie d'une réduction à un puis deux électrons comme mécanisme de formation des espèces réduites:



Les auteurs assument que ce mécanisme nécessite la disponibilité des orbitales  $\pi^*$  (LUMO) capables d'accepter ces électrons supplémentaires. Leurs résultats obtenus avec des amines aromatiques et aliphatiques semblent corroborer cette hypothèse. Cependant, les auteurs soulignent qu'aucune espèce multichargée n'est observée dans les spectres.

Pour un autre procédé de réduction induit par le bombardement, Santana-Marques<sup>50</sup> suggère que la première étape menant à la formation des espèces réduites  $[(M+H)-O]^+$  pour une série d'oximes est la protonation de l'analyte, suivie d'une réduction et éventuellement d'une désorption des espèces réduites; de plus, l'auteur propose que ce mécanisme se produise en surface de la phase condensée. Un autre mécanisme proposé par Kazakoff et al.<sup>35</sup> suggère que la concentration des espèces  $(M+H)^+$  est indépendante de la concentration de l'ion moléculaire. Ce résultat s'applique aux deux possibilités mécanistiques, soit la capture électronique ou la réaction radicalaire avec  $H^+$ , et les résultats de l'étude sont insuffisants pour favoriser un des mécanismes.

McEwen<sup>117</sup> emprunte aux comportements photochimiques des teintures ioniques pour expliquer la réduction qu'il observe en EI; il avance que la réduction est un procédé thermique initié par un transfert électronique intermoléculaire suivi d'une protonation.

Kazakoff et al.<sup>38</sup> proposent que la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  pour le bleu de méthylène découle d'un transfert électronique suivi d'une protonation. Quant à l'espèce  $(M+2H)^+$ , les auteurs postulent qu'elle provient de réactions successives où l'espèce radicalaire  $M^{\cdot}$  interagit soit avec le glycérol ( $H^+$ ) ou subit une deuxième réduction ( $e^- + H^+$ ). Encore ici, le mécanisme proposé

s'appuie sur des données brutes et l'hypothèse du détail réactionnel reste vague, sans beaucoup d'efforts pour corroborer celle-ci de quelques manières que ce soit.

L'approche privilégiée ici pour l'ébauche d'un mécanisme plausible, qui sous-tend la réduction induite par bombardement, comporte plusieurs étapes. Tout d'abord, un modèle cinétique sera développé pour tenter de dégager le chemin mécanistique le plus probable menant à la formation des espèces réduites. Ensuite, nous examinerons un mécanisme réactionnel déjà proposé dans l'étude cinétique de l'oxydation du thioglycérol par le bleu de méthylène<sup>122</sup>; bien que cette étude ne se situe pas en spectrométrie de masse, elle apportera un éclairage intéressant sur la réduction induite par le bombardement en LSIMS/FAB et viendra appuyer notre hypothèse mécanistique.

Plusieurs approches seront ensuite utilisées pour étayer l'hypothèse du mécanisme proposé. Tout d'abord, une approche mathématique où le calcul de l'affinité électronique de nos analytes, qui n'est pas disponible dans la littérature, se fera à l'aide de calculs semi-empiriques. Finalement, c'est une approche intuitive qui appuie le schéma mécanistique proposé; en comparant les valeurs rapportées dans la littérature pour la vitesse de réaction du bleu de méthylène avec respectivement les électrons ou les radicaux H<sup>•</sup>, il est possible de vérifier la propension du cation à réagir avec l'une ou l'autre de ces espèces réactives.

Par surcroît, un survol de la littérature de la réduction en LSIMS/FAB démontre que le mécanisme proposé ici cadre bien avec ceux proposés pour d'autres procédés de réduction, et en ce sens, cet écho apporte un appui supplémentaire à notre hypothèse. Finalement, il sera possible de faire un survol de la littérature traitant de la radiolyse et d'y trouver une confirmation supplémentaire du mécanisme proposé. Mais avant de s'attaquer au

mécanisme réactionnel, il serait intéressant de s'attarder au rôle que joue la structure de l'analyte dans les procédés de réduction.

## 5.1 Ébauche du mécanisme : modèle cinétique

### 5.1.1 Formation de l'espèce (M+H)<sup>+</sup>

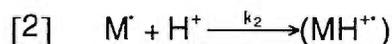
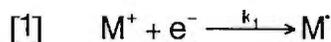
Il existe deux mécanismes réactionnels possibles qui peuvent mener à la formation de l'espèce (M+H)<sup>+</sup> soit:

- a) la réaction entre M<sup>+</sup> et H<sup>•</sup>
- b) la réaction entre M<sup>+</sup> et un électron, puis ensuite avec H<sup>+</sup>

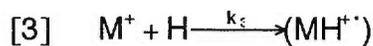
où H<sup>•</sup> représente la concentration globale en solution des hydrogènes, et englobe aussi les hydrogènes labiles des molécules de la matrice (sous forme Matrice<sup>•</sup> ou non). Dans la matrice de glycérol, la concentration de H<sup>•</sup> dans la gouttelette proviendra en majorité des molécules de la matrice ou fragments de celle-ci; pour le glycérol par exemple (C<sub>3</sub>O<sub>3</sub>H<sub>8</sub>), la concentration de H<sup>•</sup> est potentiellement 8 fois plus élevée que la concentration du glycérol. Il est bien entendu que l'hydrogène le plus labile (c'est-à-dire celui qui permettra la formation du radical le plus stable) sera le premier à réagir.

La réaction a) est probable sous les conditions de bombardement, mais elle commande une abstraction de H<sup>•</sup> de la matrice. Examinons la cinétique pour vérifier lequel des mécanismes réactionnels est favorisé.

La formation de (M+H)<sup>+</sup> peut se faire de deux façons soit:



ou alors:



Une approximation de l'état stationnaire peut être déterminée pour l'espèce  $M^+$  telle que:

$$\frac{d(M^+)}{dt} = k_1(M^+) I - k_2(M^+)(H^+) = 0$$

$$[4] \quad (M^+) = \frac{k_1(M^+) I}{k_2(H^+)}$$

où  $I$  est l'intensité du faisceau utilisé pour le bombardement. Si la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  est initiée par la capture d'un électron, alors la vitesse de la réaction sera définie par:

$$[5] \quad v_2 = k_2(M^+)(H^+)$$

en substituant l'équation [4] dans l'équation [5], on obtient:

$$[6] \quad v_2 = \frac{k_1 k_2 (H^+) (M^+) I}{k_2 (H^+)} = k_1 (M^+) I$$

Par contre, si la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  procède par abstraction d'hydrogène, alors la vitesse de la réaction sera proportionnelle à la concentration de H covalent total, provenant à la fois de la matrice et de l'analyte. Dans ce cas, cette vitesse de formation sera définie par:

$$[7] \quad v_3 = k_3 (M^+) (H)$$

Si on fait le rapport entre les deux équations de vitesse [6] et [7], on obtient:

$$[8] \quad \frac{v_2}{v_3} = \frac{k_1 I (M^+)}{k_3 (H) (M^+)} = \frac{k_1 I}{k_3 (H)}$$

À l'examen de ce rapport des deux vitesses (équations 8), il appert que la réaction qui procède par capture électronique est proportionnelle à l'intensité du faisceau  $I$ , alors que la vitesse de réaction du deuxième chemin

mécanistique est proportionnelle à la concentration de H. Étant donné la difficulté de  $M^+$  à réagir avec un hydrogène de la matrice, il semble bien que la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  emprunte le mécanisme de capture électronique. Le potentiel de réduction de l'électron solvaté est de  $-2.9V$ <sup>108</sup>, ce qui signifie qu'il réagira rapidement avec nos analytes qui possèdent des potentiels de réduction se situant entre  $-0.825V$  et  $-0.269V$ , donc beaucoup plus positifs (voir Tableau 3.1). Il faut noter que la formation de l'espèce radicalaire  $M^{\cdot}$  peut se produire par simple capture électronique mais aussi possiblement par transfert électronique d'un radical réducteur.

Une autre approche peut être utilisée pour vérifier que la formation de  $(M+H)^+$  est bien initiée par la capture d'un électron. Le paramètre cinétique qui régit la capture électronique est la disponibilité des orbitales de l'analyte où se fera le transfert. Si ce procédé est initié par capture électronique, il devra exister une corrélation linéaire entre l'affinité électronique du précurseur et le degré de réduction  $Red_1$ . Donc, si cette corrélation linéaire est observée, elle exclut d'emblée le mécanisme faisant intervenir les radicaux  $H^{\cdot}$ , puisque les réactions radicalaires ne sont pas corrélées à l'affinité électronique de l'analyte.

Puisque les valeurs des affinités électroniques pour nos composés ne sont pas disponibles, on se propose de les obtenir par des calculs semi-empiriques.

#### i) calculs semi-empiriques

L'affinité électronique d'une substance est en fait une indication de la disponibilité des orbitales inoccupées de plus basses énergies (LUMO) pour la capture d'électrons qui découlent du bombardement. La relation entre l'énergie des LUMO et l'affinité électronique est inverse, i.e. une énergie de LUMO faible se traduit par une plus grande affinité électronique.

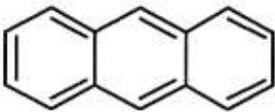
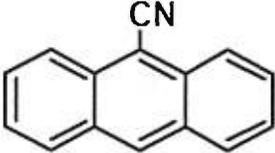
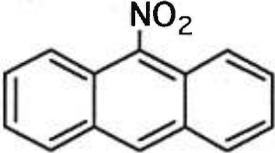
La méthode de calcul semi-empirique MNDO permet d'obtenir l'énergie des orbitales  $\pi^*$  (LUMO) d'une substance donnée. Il est facile de traduire ces énergies de LUMO en affinités électroniques en établissant une courbe de calibration; ceci s'effectue en calculant les énergies des orbitales  $\pi^*$  de composés standards dont les affinités électroniques ont été obtenues expérimentalement. Notons que ces valeurs calculées seront utilisées pour établir un ordre relatif des affinités électroniques pour la série de composés donnés et ne doivent pas être considérées comme valeurs absolues. Cette façon de faire a déjà été employée, entre autres par Musser et al.<sup>113</sup> pour la détermination des affinités électroniques de nucléosides halogénés, et a été reprise par Théberge<sup>138</sup>. Notons que les énergies de LUMO ne sont pas calculées pour des composés solvatés. Ces derniers dénotent que la relation entre l'affinité électronique de l'analyte et l'importance du procédé de déhalogénéation est inversement proportionnelle.

La courbe standard a été établie d'une part grâce aux affinités électroniques obtenues expérimentalement pour une série d'anthracènes<sup>123</sup> substitués et d'autre part à l'aide des valeurs calculées des LUMO pour ces mêmes substances. Ces valeurs sont rapportées dans le Tableau 5.1. La régression linéaire reliant ces affinités électroniques aux énergies des LUMO donne l'équation suivante:

$$[9] \quad \text{Affinité électronique} = -0.4718 (\text{LUMO}) + 0.6314 \quad R = 0.9779$$

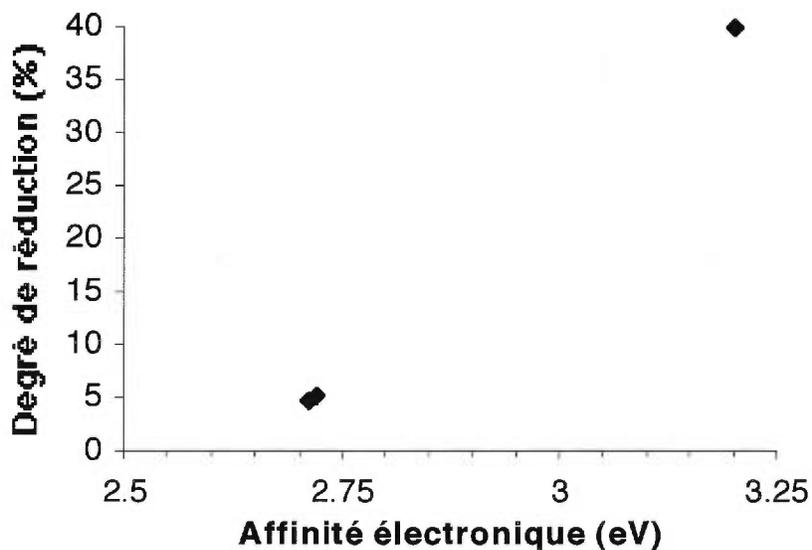
Le Tableau 5.2 présente l'affinité électronique obtenue à l'aide de cette équation pour l'espèce  $M^+$  (soit les trois analytes) qui est le précurseur à la formation de l'espèce  $(M+H)^+$ . La Figure 5.1 démontre la relation entre le degré de réduction  $\text{Red}_1$  obtenu par SIMBROC et les affinités électroniques calculées à l'aide de l'équation [9].

**Tableau 5.1 : Corrélation des affinités électroniques expérimentales<sup>123</sup> et des énergies des LUMO calculées pour une série d'antracènes substitués**

Structure	Énergies des LUMO (eV)	Affinité électronique
	- 0,02	0,60
 CN	- 1,13	1,27
 NO <sub>2</sub>	- 1,83	1,43

**Tableau 5.2 : Affinités électroniques calculées avec l'équation [9] à partir des énergies des LUMO obtenues pour les précurseurs M<sup>+</sup>**

	Énergies des LUMO (eV)	Affinité électronique (eV)
MB <sup>+</sup>	- 5,44	3,20
VL <sup>+</sup>	- 4,41	2,71
RH <sup>+</sup>	- 4,43	2,72



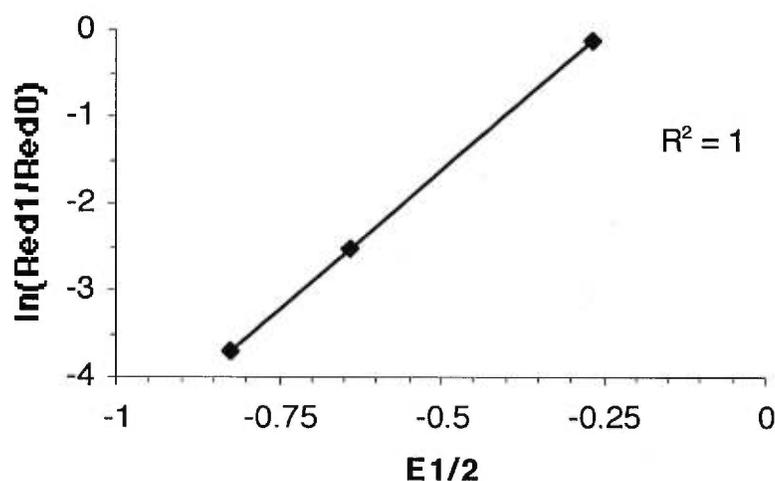
**Figure 5.1 : Corrélation du procédé de réduction Red<sub>1</sub> avec les affinités électroniques calculées (0,1M, 14 keV, 1,5  $\mu$ A)**

Dans notre étude, les calculs attribuent à deux de nos analytes (VL et RH) des valeurs d'affinités électroniques très semblables. La relation se fait alors véritablement avec deux points expérimentaux. Cependant, nous savons la relation linéaire entre les affinités électroniques et le procédé de déhalogénéation, grâce aux travaux de Laramée<sup>116</sup>, Théberge<sup>138</sup> et Musser<sup>113</sup>. On peut donc supposer qu'une corrélation linéaire semblable s'établit entre le procédé Red<sub>1</sub> et l'affinité électronique de M<sup>+</sup>.

La corrélation qui s'établit entre Red<sub>1</sub> et l'affinité électronique est positive et non négative, ce qui abonde dans le sens du mécanisme proposé; une hausse de l'affinité électronique d'une substance se traduit par une disponibilité accrue des orbitales LUMO pour la capture électronique, et subséquemment par une hausse du degré de réduction Red<sub>1</sub>.

Une approche plus simple a été utilisée dans la littérature pour illustrer la corrélation entre l'intensité des espèces réduites et la disponibilité des orbitales  $\pi^*$ , soit la corrélation de la réduction apparente induite par irradiation avec les potentiels de réduction standard  $E^{\circ}_{1/2}$  des analytes<sup>35, 37, 39-40</sup>. Pelzer et al.<sup>17</sup> soulignent qu'un potentiel  $E^{\circ}_{1/2}$  plus négatif se traduit par moins de réduction dans les spectres FAB. Par contre, Reynolds et al.<sup>40</sup> en arrivent à une autre conclusion. Plus précisément, en assumant que les potentiels de réduction  $E^{\circ}_{1/2}$  sont similaires dans l'eau et le glycérol, que le système a un comportement Nernstien et que les intensités ( $I$ ) des espèces réduites dans le spectre sont directement proportionnelles à leur concentration en solution, les auteurs estiment qu'il devrait exister une relation linéaire entre  $E^{\circ}_{1/2}$  et  $\ln[I_{RED}/I_{OX}]$ . Puisque ce n'est pas le cas, les auteurs en déduisent que cette non-linéarité traduit le rôle important de facteurs à la fois cinétiques et thermodynamiques dans les procédés de réduction en LSIMS/FAB.

Il est cependant important de vérifier quelle est la relation qui existe entre les potentiels de réduction  $E^{\circ}_{1/2}$  et les degrés réels de réduction. A priori, il est plausible d'envisager une corrélation linéaire proportionnelle entre ces deux paramètres pour le procédé Red<sub>1</sub>. La Figure 5.2 expose la corrélation pour les procédés de réduction obtenus pour des solutions glycéroliques 0,05M avec les potentiels de réduction de demi-vague polarographique <sup>17</sup>.



**Figure 5.2 : Corrélation de  $\ln[\text{Red1}/\text{Red0}]$  avec les potentiels  $E^{\circ}_{1/2}$  pour nos trois analytes (0,05M GLY, 14 keV, 1,5  $\mu\text{A}$ )**

La Figure 5.2 expose la corrélation linéaire entre  $\ln[\text{Red1}/\text{Red0}]$  et  $E^{\circ}_{1/2}$  attendue; ceci corrobore une fois de plus l'hypothèse mécanistique proposée plus haut.

Il semble très probable dès lors, que la formation de l'espèce  $(\text{M}+\text{H})^+$  soit initiée par capture électronique, et non par abstraction d'un hydrogène. Le

développement du modèle cinétique se poursuit donc en posant cette hypothèse.

### 5.1.2 Effet de la structure de l'analyte sur les procédés de réduction

Il semble évident que la réduction d'une substance sous irradiation soit tributaire de sa structure, puisqu'il est possible de discerner des familles de composés plus susceptibles de subir une réduction que d'autres. Une autre façon de vérifier si Red<sub>1</sub> est initié par capture électronique, est de voir s'il existe une corrélation entre les structures des analytes et le degré de réduction qu'ils subissent. En effet, les radicaux H<sup>•</sup> sont des entités qui réagissent avec les sites d'insaturation des composés organiques<sup>108</sup>. Vérifions s'il existe une corrélation entre le degré de réduction réel des composés à l'étude ici et certaines caractéristiques structurales, telles le nombre de doubles liaisons ou le nombre de cycles aromatiques. Le Tableau 5.3 expose ces caractéristiques structurales pour les analytes à l'étude en fonction du procédé réel Red<sub>1</sub>.

**Tableau 5.3 : Corrélation entre les caractéristiques structurales des analytes et Red<sub>1</sub> (Gly, 0,025M, 1,5 μA, 14 keV).**

Structure	#D.L. <sup>a</sup>	#C.A. <sup>b</sup>	Red <sub>1</sub>
MB <sup>+</sup>	7	3	45,7
VL <sup>+</sup>	10	3	7,1
RH <sup>+</sup>	10	4	3,0

<sup>a</sup> nombres de doubles liaisons

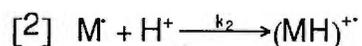
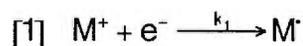
<sup>b</sup> nombres de cycles aromatiques

Il n'y a pas la précision nécessaire pour faire la distinction entre trois ou quatre cycles aromatiques, et de ce fait, il ne semble pas y avoir de corrélation

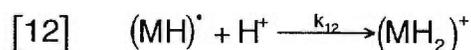
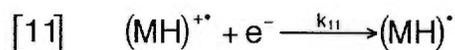
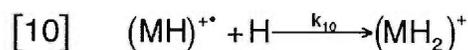
apparente entre le nombre de sites d'insaturation ou celui des cycles aromatiques et le procédé  $\text{Red}_1$ . Il est donc plausible d'avancer que les hétéroatomes présents dans les structures jouent un rôle important quant à la désignation du site le plus susceptible d'être réduit. Cette conclusion est en accord avec les résultats expérimentaux, puisque les procédés  $\text{Red}_n$  pour  $n > 2$  sont inexistantes, et il est donc certain que la réduction dont il est question ici ne se limite pas à la saturation simple des doubles liens présents dans la molécule.

### 5.1.3 Formation de l'espèce $(\text{M}+2\text{H})^+$

Posons maintenant les réactions qui mènent à la formation de l'espèce  $(\text{M}+2\text{H})^+$ . Premièrement, l'hypothèse la plus probable indique que la formation de  $(\text{M}+2\text{H})^+$  est consécutive à la formation de l'espèce  $(\text{M}+\text{H})^+$ . Comme nous l'avons déterminé à la section 5.1.1, la formation de la première espèce réduite est définie par les deux équations suivantes:



Par la suite, la formation de l'espèce  $(\text{M}+2\text{H})^+$  peut se produire soit par abstraction d'hydrogène, soit par capture d'un électron suivie d'une réaction avec un proton:



Sous irradiation, il y a formation d'électrons dans les conditions expérimentales en LSIMS/FAB. On peut estimer que cette concentration est à l'état stationnaire et est proportionnelle à l'intensité du faisceau bombardant, I.

À partir de ces réactions, on peut effectuer une simplification par une approximation de l'état stationnaire pour certaines espèces très réactives:

$$\frac{d(M^{\bullet})}{dt} = k_1(M^+) I - k_2(H^+)(M^{\bullet}) = 0$$

$$[13] \quad M^{\bullet} = \frac{k_1(M^+) I}{k_2(H^+)}$$

de la même manière:

$$\frac{d(MH^{\bullet})}{dt} = k_{11}(MH^{+\bullet}) I - k_{12}(H^+)(MH^{\bullet}) = 0$$

$$[14] \quad MH^{\bullet} = \frac{k_{11}(MH^{+\bullet}) I}{k_{12}(H^+)}$$

et

$$\frac{d(MH^{+\bullet})}{dt} = k_2(M^{\bullet})(H^+) - k_{10}(H)(MH^{+\bullet}) - k_{11}(MH^{+\bullet}) I = 0$$

$$[15] \quad MH^{+\bullet} = \frac{k_2(M^{\bullet})(H^+)}{k_{10}(H) + k_{11} I}$$

En substituant l'équation [13] dans l'équation [15], on obtient:

$$[16] \quad MH^{+\bullet} = \frac{k_2 k_1 (M^+) (H^+) I}{k_2 (H^+) (k_{10}(H) + k_{11} I)}$$

Une fois ces quelques simplifications terminées, on peut déterminer la vitesse de la formation de  $(M+2H)^+$ . Si le mécanisme procède par abstraction d'hydrogène, alors:

$$[17] \quad v_{10} = k_{10}(MH^{+\bullet})(H)$$

et si on substitue l'équation [16] dans l'équation [17], on obtient:

$$[18] \quad v_{10} = \frac{k_{10}(H)k_2k_1(M^+)(H^+) I}{k_2(H^+)(k_{10}(H) + k_{11} I)} = \frac{k_1k_{10}(H)(M^+) I}{(k_{10}(H) + k_{11} I)}$$

Par contre, si la formation de  $(M+2H)^+$  est initiée par capture électronique, alors la vitesse de formation sera définie par:

$$[19] \quad v_{12} = k_{12}(MH^{\bullet})(H^+)$$

et en substituant l'équation [14] puis [16] dans l'équation [19], on obtient:

$$[20] \quad v_{12} = \frac{k_{12}k_{11}(MH^{+\bullet})(H^+) I}{k_{12}(H^+)} = k_{11}(MH^{+\bullet}) I = \frac{k_1k_2k_2(M^+) I(H^+) I}{k_2(H^+)(k_{10}(H) + k_{11} I)} = \frac{k_{11}k_1(M^+) I^2}{(k_{10}(H) + k_{11} I)}$$

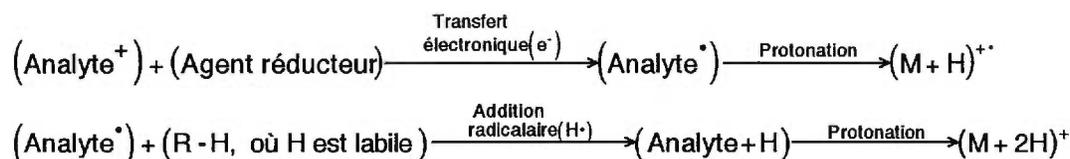
Pour discerner lequel des mécanismes est le plus probable pour la formation de l'espèce  $(M+2H)^+$ , nous effectuons le rapport entre les deux équations de vitesse de formation, [18] et [20]:

$$[21] \quad \frac{v_{10}}{v_{12}} = \frac{k_1k_{10}(H)(M^+) (k_{10}(H) + k_{11} I)}{(k_{10}(H) + k_{11} I)k_{11}k_1(M^+) I^2} = \frac{k_{10}(H)}{k_{11} I}$$

Ce rapport des vitesses nous indique que la formation de  $(M+2H)^+$  par abstraction d'hydrogène est proportionnelle à la concentration globale de H dans la gouttelette alors que la vitesse de formation par capture électronique est proportionnelle à l'intensité du faisceau. Puisque le précurseur de  $(M+2H)^+$

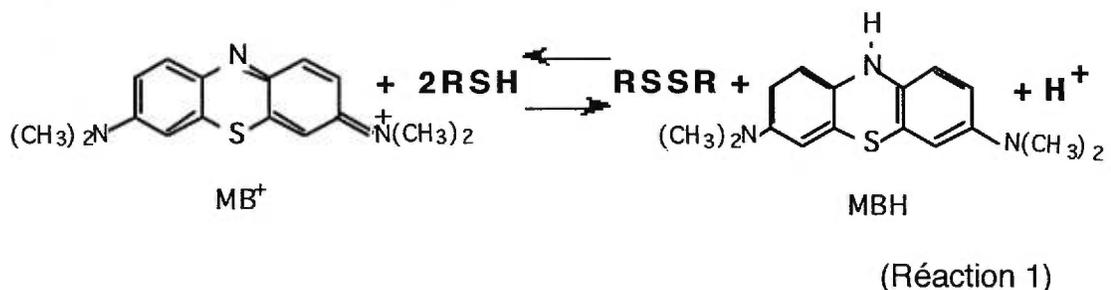
est  $(M+H)^+$ , un radical, la réaction qui procède par abstraction d'hydrogène est fortement favorisée; il existe en effet, plusieurs ordres de grandeur entre la concentration d'électrons et celle des hydrogènes.

En résumé, voici le schéma réactionnel qui procède en deux étapes consécutives et qui dévoile le détail mécanistique s'appliquant aux espèces en solution susceptibles de subir une réduction sous bombardement:



## 5.2 Validation du mécanisme : le système bleu de méthylène-thioglycérol

La réduction induite par le bombardement pour le système à l'étude est un procédé qui prend place en phase condensée, il pourrait être intéressant de faire un parallèle entre le mécanisme de la réaction induite par le faisceau et celui proposé par Huyser<sup>122</sup> pour la réaction spontanée entre le bleu de méthylène et le thioglycérol. Cette réaction a déjà été mentionnée au chapitre précédent comme étant nuisible puisqu'elle engendrait des spectres tributaires du temps écoulé entre la préparation de la solution et l'analyse. La variabilité des spectres est due à la formation de l'espèce réduite du bleu de méthylène, découlant de la réaction suivante:



L'objet de l'étude de Huyser était d'élucider le mécanisme de cette réaction rédox. L'auteur suggère que l'oxydation du thioglycérol par le bleu de méthylène est complexe, et propose un schéma mécanistique détaillé comprenant plusieurs réactions élémentaires dont quelques-unes procèdent par l'intervention de radicaux libres. L'ordre cinétique de réaction par rapport à la concentration de bleu de méthylène et du thioglycérol rapporté par l'auteur est fractionnaire.

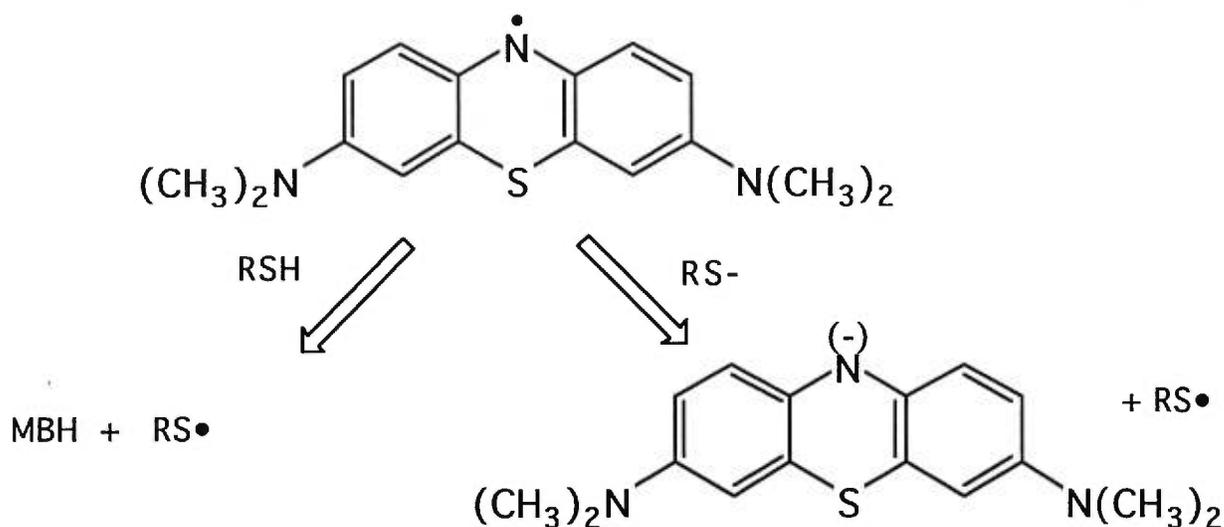
Quoique le mécanisme proposé par Huyser comporte plusieurs réactions élémentaires, il est possible de rapporter les étapes essentielles de ce mécanisme qui mènent à la formation des espèces d'intérêt. L'auteur avance que l'initiation de la réaction procède par un **transfert électronique** entre le bleu de méthylène ( $MB^+$ ) et l'ion sulfure ( $RS^-$ ):



Cette réaction mène à la formation du radical thyle ( $RS^\cdot$ ) et du radical  $MB^\cdot$ . La propagation de la réaction s'effectue par une suite de réactions radicalaires, dont deux autres réactions qui conduisent à l'espèce  $MB^\cdot$  et à l'espèce leuco-bleu de méthylène ( $MBH$ ):



La formation du radical  $MB^\cdot$  par la réaction [23] procède également par transfert électronique, tout comme la réaction [22]. Par contre, il semble que la formation de l'espèce leuco-bleu de méthylène ( $MBH$ ) provient d'un **transfert d'hydrogène** entre le solvant et  $MB^\cdot$  (équation [24]). L'auteur justifie ce mécanisme en ces termes : la structure la plus probable pour le radical  $MB^\cdot$  est celle qui présente l'électron non-pairé sur l'azote de l'hétérocycle. De là, existent deux chemins réactionnels possibles, soit la capture d'un électron par le radical, ou l'abstraction d'un hydrogène du solvant.



L'espèce  $\text{MB}^-$  qui découle d'une capture électronique est la base conjuguée du leuco-bleu de méthylène, qui est un acide faible. Par contre, l'abstraction d'un atome d'hydrogène du thiol mène justement à la formation du leuco bleu de méthylène (MBH), le produit plus stable, et de ce fait semble donc un chemin mécanistique plus réaliste.

L'étude de Huyser<sup>122</sup> corrobore notre hypothèse mécanistique. En effet, l'initiation ici de la réduction spontanée dans le système MB-THIO s'effectue grâce à une espèce réductrice, soit  $\text{RS}^-$  ou  $\text{RSSR}^-$ , qui transfère un électron au bleu de méthylène pour former l'espèce radicalaire,  $\text{M}^\bullet$ . Ensuite, ce radical, espèce réactive par nature, abstrait un radical  $\text{H}^\bullet$  à la matrice RSH. Ceci démontre bien que la source des hydrogènes peut effectivement être la matrice.

### 5.2.1 Validation du mécanisme: approche expérimentale

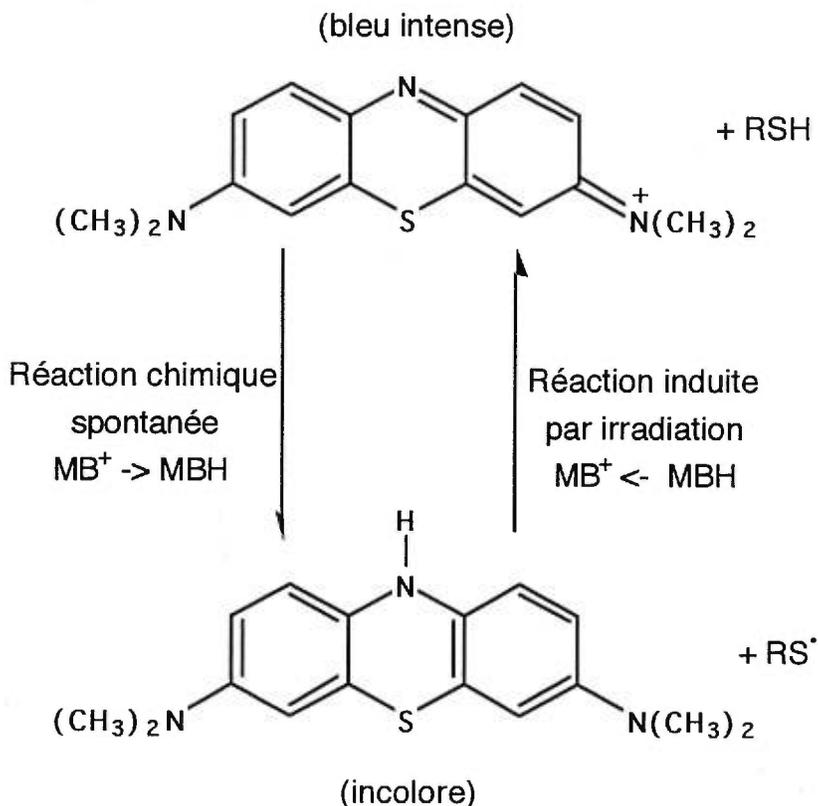
Au coeur du mécanisme proposé par Huyser se trouve le radical thyile ( $\text{RS}^\bullet$ ), qui tient un rôle important. Singulièrement ce même radical joue aussi un rôle majeur dans l'inhibition de la réaction de déhalogénéation par l'usage

du thioglycérol comme matrice en LSIMS/FAB. En effet, Théberge et al.<sup>88</sup> proposent que le caractère inhibiteur du thioglycérol face à la déhalogénéation, une autre réaction induite par le bombardement, est dû à la formation sous bombardement d'une cascade radicalaire oxydante composée du radical  $RS^{\cdot}$ . Les auteurs supportent leur hypothèse en effectuant un parallèle entre les espèces générées sous radiolyse et celles générées en LSIMS/FAB pour le thioglycérol.

Si le bombardement du thioglycérol engendre effectivement une cascade de radicaux  $RS^{\cdot}$ , on pourrait supposer que la réaction spontanée entre le thioglycérol et le bleu de méthylène (réaction [1]) pourrait être renversée sous bombardement, selon le principe de Le Chatelier, suivant les réactions proposées plus haut par Huyser :



En augmentant la concentration des radicaux  $RS^{\cdot}$  dans une solution à l'équilibre, le système se comportera de manière à consommer ce surplus et il y aura ainsi une régénération progressive du bleu de méthylène sous bombardement par l'inversion de la réaction ( $MB^{+} \leftarrow MBH$ ). Il est donc possible d'exprimer schématiquement ce système:

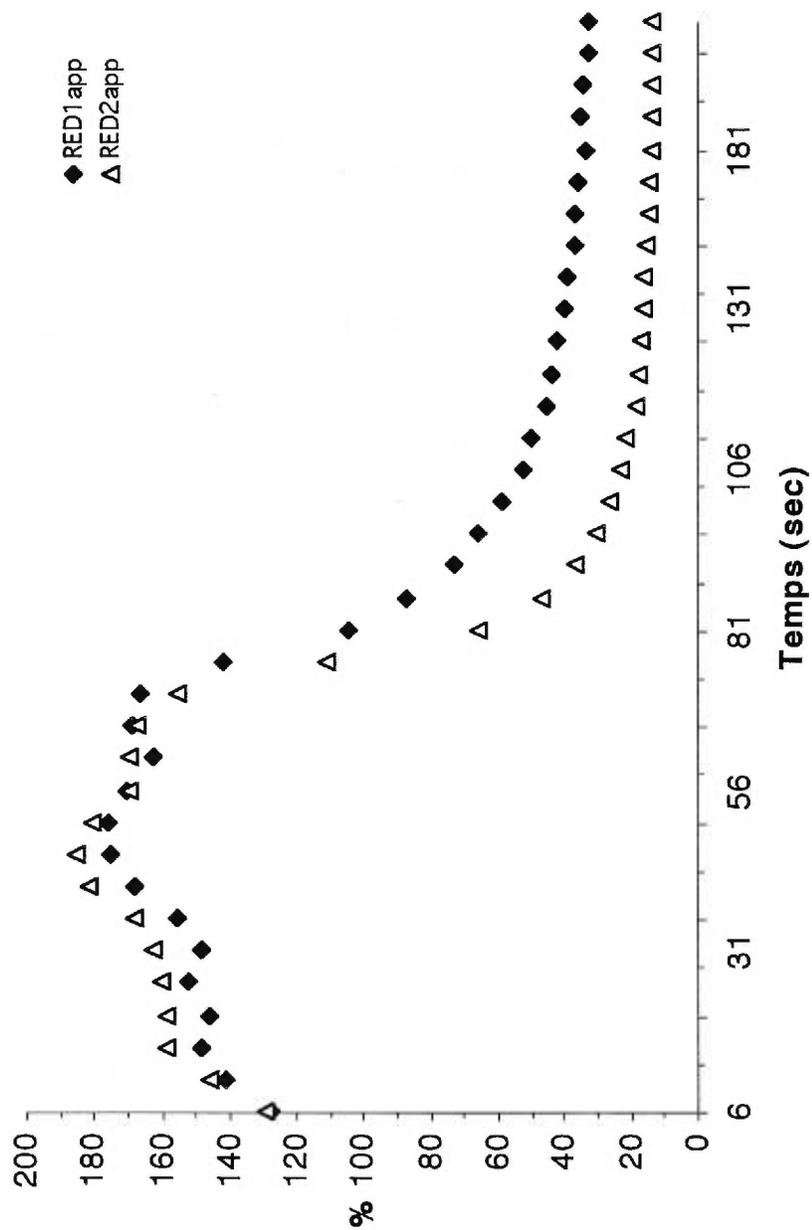


Pour vérifier cette hypothèse, un aliquot d'une solution de bleu de méthylène-thioglycérol, préparée 60 minutes auparavant et totalement décolorée, est analysé et son comportement est étudié en fonction du temps d'irradiation. À première vue, les spectres obtenus présentent effectivement une diminution progressive des ions satellites  $(M+1)^+$  et  $(M+2)^+$  au cours du bombardement accompagné d'une régénération apparente de l'ion moléculaire  $M^+$ . Le profil des intensités  $\text{Red}_n^{\text{app}}$  en fonction du temps est présenté dans la Figure 5.3. Les valeurs apparentes de réduction sont obtenues en retranchant la contribution isotopique de l'ion moléculaire des signaux  $(M+1)^+$  et  $(M+2)^+$ . Pour s'assurer que cette tendance reflète effectivement celle des procédés réels de réduction, la région de l'ion moléculaire de chaque balayage a été traitée avec SIMBROC et les résultats sont présentés dans la Figure 5.4. À l'examen de cette figure, on voit de manière très nette que les procédés de réduction  $\text{Red}_1$  et  $\text{Red}_2$  diminuent au cours du bombardement et que cette diminution significative de la réduction

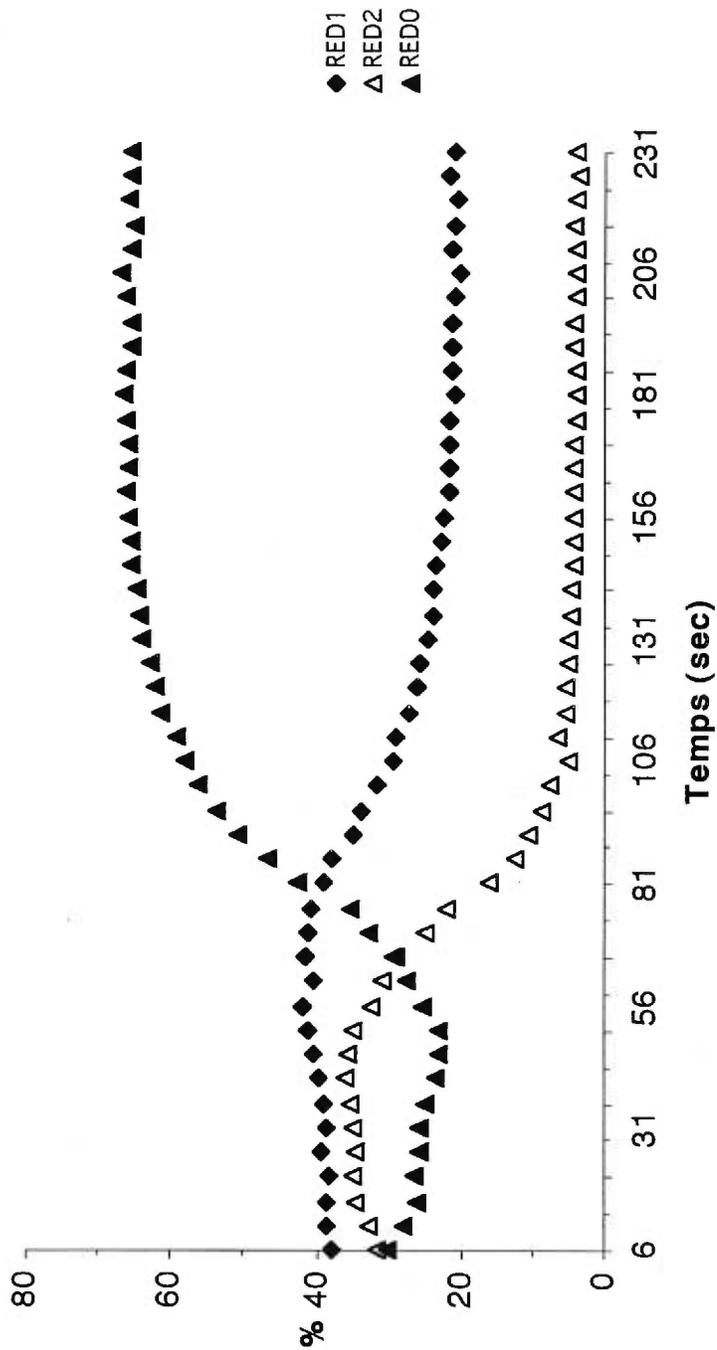
est accompagnée d'une régénération de l'ion moléculaire,  $\text{Red}_0$ . Ces résultats semblent donc corroborer l'hypothèse de Théberge au sujet de la génération de radicaux thyles sous irradiation du thioglycérol tout en consolidant d'une certaine manière le mécanisme proposé, du moins le rôle que jouent les radicaux thyles dans ce procédé.

Fait à noter, nous avons observé que l'échantillon sur la cible avait retrouvé après le bombardement, la couleur bleue caractéristique du cation du bleu de méthylène. Cet indice visuel soutien d'avantage l'hypothèse d'une régénération de l'espèce  $\text{MB}^+$ , et de surcroît, tend à indiquer que ces procédés prennent place en phase condensée. Ceci indique également que les profils cinétiques obtenus proviennent d'une réaction en solution et non pas d'une quelconque modification des populations des espèces en surface. Kazakoff<sup>38</sup> a aussi fait mention de la résurgence de la couleur bleue après le bombardement d'un aliquot MB-THIO, mais n'avoue ne pas pouvoir fournir d'explications à cette observation.

À la lumière de ces derniers résultats, il est désormais plus aisé de comprendre la disparité des valeurs publiées (voir Tableau 4.1) dans la littérature pour ce système. Il est possible de relever une différence dans la procédure expérimentale de ces études pour ce qui est du temps d'irradiation de la solution; par exemple, les résultats rapportés par Reynolds<sup>40</sup> pour ce système sont obtenus après une à deux minutes de bombardement, alors que Kazakoff<sup>38</sup> rapportent les résultats obtenus pour une moyenne des cinq



**Figure 5.3 : Variation des procédés apparents Red<sub>1</sub>(◆) et Red<sub>2</sub>(▲) de réduction en fonction du temps d'irradiation. (MB, THIO, 0,005M, 1,5 μA, 14 keV)**

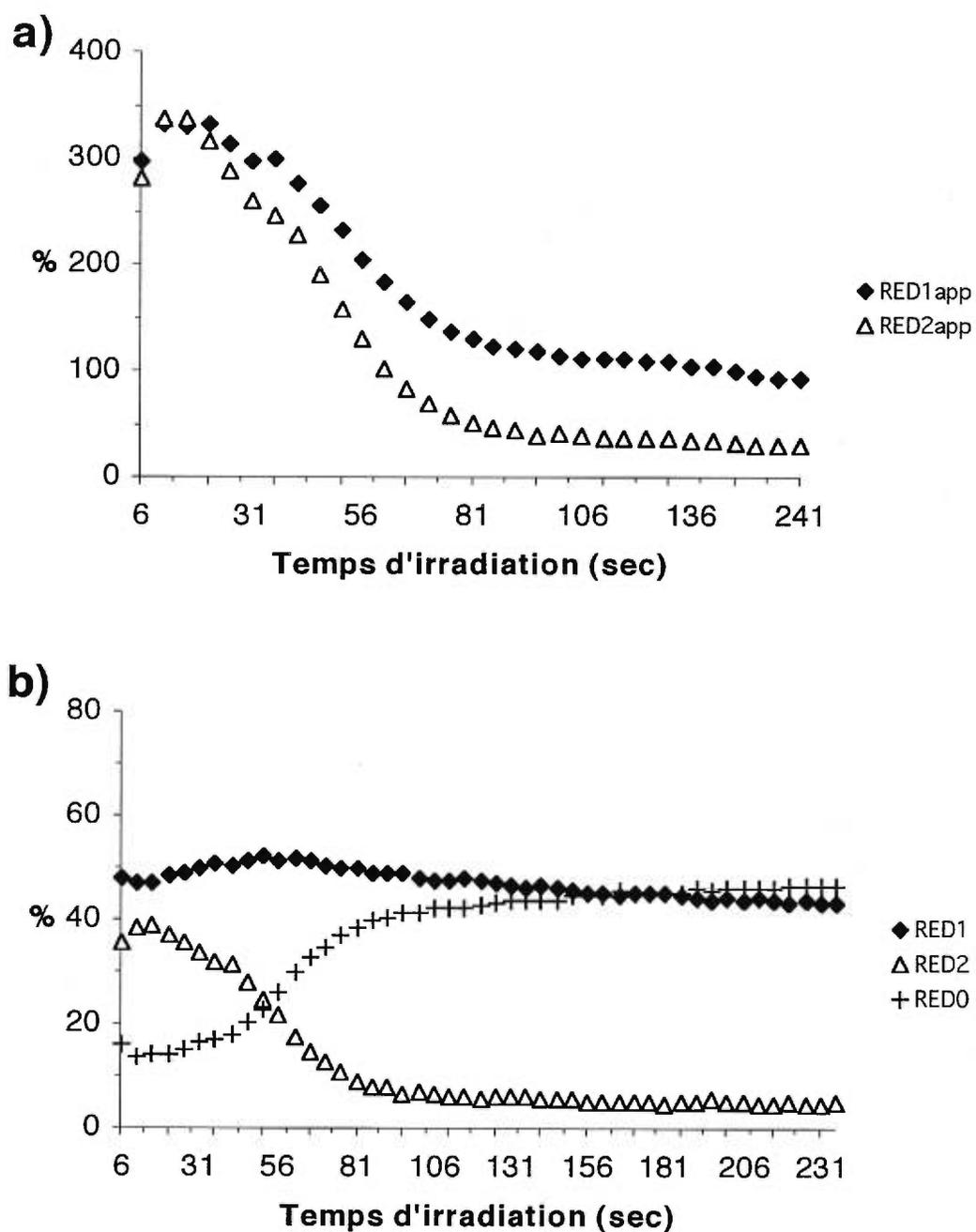


**Figure 5.4 : Variation des procédés réels Red<sub>1</sub>(◆) et Red<sub>2</sub>(△) de réduction en fonction du temps d'irradiation. (MB, THIO, 0,005M, 1,5 μA, 14 keV)**

premiers balayages. Puisque l'abondance des espèces réduites pour ce système dépend non seulement du temps écoulé entre la préparation du mélange et l'analyse, mais aussi du temps d'irradiation, la disparité des valeurs obtenues pour ce système n'est pas étonnante.

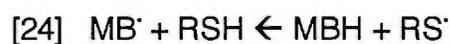
L'examen du profil cinétique des procédés réels de réduction (Figure 5.4) révèle un tracé cohérent et qui s'avère reproductible et représentatif des trois essais effectués à cette concentration. Cette corrélation du tracé est surprenante lorsque l'on considère la reproductibilité moyenne des spectres FAB en général. Il semble que cette technique analytique s'avère un moyen intéressant d'étudier des réactions cinétiques prenant place dans l'enceinte de l'appareil. Par exemple Vékey <sup>134</sup> a étudié la cinétique de l'interaction matrice-analyte pour un échantillon d'un tetrapeptide (MAPI) dans le glycérol; l'auteur applique une approximation de pseudo premier ordre, étant donné que la matrice est en excès face à la concentration de l'analyte, et note que les résultats sont très reproductibles.

Par contre, l'étude cinétique des procédés de réduction induits par le bombardement qui affectent la région de l'ion moléculaire était jusqu'ici limitée par l'usage de données apparentes de réduction. Mais l'emploi de SIMBROC et l'obtention des procédés réels de réduction peuvent mener à une compréhension plus juste des systèmes à l'étude. À titre d'exemple, considérons le profil cinétique des procédés réels et apparents de réduction à deux concentrations différentes pour la réaction inverse  $MB^+ \leftarrow MBH$ . En comparant la Figure 5.5 aux Figures 5.4 et 5.3, on remarque que le profil cinétique apparent est semblable aux deux concentrations. Ainsi, l'intensité des espèces  $Red_n^{app}$  parvient à un maximum pour ensuite diminuer, donnant un profil tout à fait semblable aux deux concentrations. Or, la concentration semble avoir un impact considérable sur les profils réels; ainsi le procédé  $Red_1$



**Figure 5.5 : Profil cinétique a) apparent et b) réel d'une solution MB-THIO 0,1M. (1,5  $\mu$ A, 14 keV)**

présente un état quasi-stationnaire en fonction du temps lorsque la concentration est de 0,1M, ce qui n'est pas du tout le cas à 0,005M. L'établissement d'un état stationnaire dans une réaction est souvent le reflet du caractère hautement réactif d'un intermédiaire dans une suite de réactions consécutives. C'est effectivement le cas ici, où l'espèce intermédiaire MB<sup>•</sup> est un radical et donc relativement réactif. Si on admet un schéma simple de la réaction induite sous bombardement pour le système MB-THIO à l'aide des réactions proposées plus haut:



on peut définir l'état stationnaire  $[\text{MB}^{\bullet}]_{ss}$  de l'intermédiaire radicalaire MB<sup>•</sup> par:

$$[25] \quad [\text{MB}^{\bullet}]_{ss} = \frac{k_4[\text{MBH}][\text{RS}^{\bullet}]}{k_5[\text{RS}^{\bullet}]} = \frac{k_4[\text{MBH}]}{k_5}$$

Cette relation mathématique indique que la concentration de l'espèce MB<sup>•</sup> à l'état stationnaire est dépendante de la concentration du leuco-bleu de méthylène, le précurseur. Donc, une concentration de départ élevée, signifie que la concentration de MB<sup>•</sup> à l'état stationnaire sera proportionnelle et de plus, l'état stationnaire sera atteint plus rapidement, ce qui corrobore les résultats expérimentaux.

Il est possible de déterminer l'ordre partiel de la réaction globale  $\text{MB}^+ \leftarrow \text{MBH}$  ainsi que d'estimer la constante de vitesse apparente à l'aide des profils cinétiques réels obtenus pour une série de concentrations différentes. Pour simplifier le traitement mathématique, on peut supposer qu'à toutes les concentrations utilisées, le thioglycérol est en excès face à la concentration de bleu de méthylène, i.e. que sa concentration ne varie pas de manière significative au cours de la réaction. Aux concentrations utilisées, le ratio

matrice:analyte est  $\geq 137:1$ . Dans ce cas, on a dégénérescence de l'ordre de la réaction et la vitesse de la réaction  $MB^+ \leftarrow MBH$  peut s'exprimer par :

$$[26] \quad V = k' [MBH]^\alpha$$

où  $\alpha$  est l'ordre partiel de réaction par rapport à  $[MBH]$ , et  $k'$  est une constante apparente, égale à  $k[THIO]^\beta$ . La forme générale de l'équation de vitesse intégrée pour une réaction est:

$$[27] \quad k'_t = \left( \frac{1}{\alpha - 1} \right) \left[ \left( \frac{1}{a - x} \right) \exp^{\alpha-1} - \left( \frac{1}{a} \right) \exp^{\alpha-1} \right]$$

où  $\alpha$  indique l'ordre réaction,  $t$  est le temps,  $a$  est la concentration au temps  $t=0$  et  $x$  est la proportion de  $a$  ayant réagit. Pour la réaction d'ordre un, l'équation de vitesse est donnée par :

$$[28] \quad k'_t = 2.3 \log \frac{a}{a - x}$$

Une méthode pour obtenir l'ordre de la réaction consiste à calculer la constante de vitesse apparente  $k'$  à chaque instant du profil cinétique pour quelques valeurs de  $\alpha$ . L'ordre partiel pour laquelle la constante de vitesse  $k'$  varie le moins tout au cours de la réaction indique l'ordre de réaction le plus probable. Il faut toutefois émettre une mise en garde, car ce tableau traite d'un système qui n'est pas en situation d'équilibre, donc le milieu est non-homogène. De ce fait, les valeurs obtenues sont intégrées et découlent d'un système où il y a un gradient de vitesses. L'ordre déterminé ici est donc un ordre partiel apparent de la réaction.

Le Tableau 5.4 présente les constantes de vitesse et les écarts types (std) obtenues pour différentes valeurs de  $\alpha$  pour différentes concentrations de

bleu de méthylène. En comparant les écarts types pour chaque ordre partiel apparent  $\alpha$ , on remarque que pour toutes les concentrations étudiées, la constante  $k'$  à  $\alpha = 1/2$  est celle qui présente le moins de variation au fil du temps. Cette constatation est vérifiée pour les trois essais à chaque concentration, et il semble donc que l'ordre partiel apparent de réaction le plus probable par rapport au bleu de méthylène est  $\alpha = 1/2$ . Il est intéressant de noter que l'ordre de réaction partiel par rapport au bleu de méthylène dans la réaction spontanée  $MB^+ \rightarrow MBH$  a été rapporté comme étant  $\alpha = 1/2$  par deux études cinétiques traitant de la réduction de cet analyte par les thiols<sup>122, 137</sup>.

Il a également été possible de déterminer la constante apparente  $k'$  pour la réaction  $MB^+ \leftarrow MBH$  en faisant la moyenne des constantes calculées à chaque concentration, pour trois essais. Les données sont présentées au Tableau 5.5 et mènent à une estimation de la constante de vitesse apparente  $k' = 8 \pm 1 \times 10^{-3} \text{ mol}^{1/2} \text{ s}^{-1} \text{ I}^{-1/2}$ , indépendante de la concentration.

Une autre expérience pourrait être susceptible d'étayer davantage nos hypothèses mécanistiques proposées plus haut. En effet, Bartmess et al.<sup>153</sup> ont proposé une expérience pour mettre en évidence le rôle que joue la matrice dans les procédés de réduction. Les auteurs posent que pour le glycérol, c'est le lien C-H du carbone central qui est le plus faible, et donc la source des radicaux susceptibles d'initier la réduction. En employant un analogue du glycérol comme matrice (le 2-méthylglycérol), l'auteur obtient une inhibition non négligeable des deux procédés de réduction apparents

**Tableau 5.4 : Évaluation de la constante de vitesse,  $k'$ , pour différents ordres partiels de réaction,  $\alpha$ , et pour une série de solutions MB-THIO de différentes concentrations (1,5  $\mu\text{A}$ , 14 keV)**

$k'$					
[MB] (Mol L <sup>-1</sup> )	$\alpha=2$	$\alpha=1$	$\alpha=3/4$	$\alpha=1/2$	$\alpha=1/4$
0,005	0,03	0,003	0,03	<b>0,007</b>	0,015
std*	0,01	0,006	0,007	<b>0,002</b>	0,004
0,01	0,04	0,003	0,03	<b>0,008</b>	0,016
std*	0,01	0,006	0,008	<b>0,002</b>	0,005
0,025	0,03	0,01	0,04	<b>0,009</b>	0,02
std*	0,01	0,009	0,01	<b>0,003</b>	0,006
0,05	0,03	0,03	0,03	<b>0,007</b>	0,02
std*	0,02	0,05	0,02	<b>0,004</b>	0,008
0,1	0,03	0,01	0,03	<b>0,007</b>	0,016
std*	0,01	0,03	0,01	<b>0,003</b>	0,006

\* = écart type de trois mesures calculés pour  $k'$

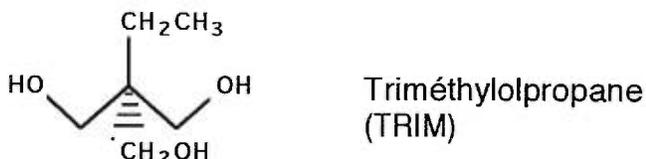
**Tableau 5.5 : Estimation de la constante de vitesse apparente pour  $V = k'[MBH]^{1/2}$ , où l'ordre  $\alpha = 1/2$**

[M]	essai	$k' \left( \frac{\text{Mol}^{\frac{1}{2}}}{\text{l}^{\frac{1}{2}} \text{ s}} \right)$	Moyenne $k'$ (écart type) pour une concentration donnée
0,005	1	$7,29 \times 10^{-3}$	$7,9 \times 10^{-3} (7 \times 10^{-4})$
	2	$7,83 \times 10^{-3}$	
	3	$8,65 \times 10^{-3}$	
0,01	1	$7,96 \times 10^{-3}$	$7,4 \times 10^{-3} (9 \times 10^{-4})$
	2	$7,93 \times 10^{-3}$	
	3	$6,36 \times 10^{-3}$	
0,025	1	$9,09 \times 10^{-3}$	$9,9 \times 10^{-3} (7 \times 10^{-4})$
	2	$1,05 \times 10^{-2}$	
	3	$1,00 \times 10^{-2}$	
0,05	1	$7,17 \times 10^{-3}$	$8 \times 10^{-3} (1 \times 10^{-3})$
	2	$9,18 \times 10^{-3}$	
	3	$8,52 \times 10^{-3}$	
0,1	1	$7,48 \times 10^{-3}$	$7,8 \times 10^{-3} (8 \times 10^{-4})$
	2	$7,11 \times 10^{-3}$	
	3	$8,69 \times 10^{-3}$	
Moyenne $k'$ :		$8 \times 10^{-3} \left( \frac{\text{Mol}^{\frac{1}{2}}}{\text{l}^{\frac{1}{2}} \text{ s}} \right)$	std : $1 \times 10^{-3} \left( \frac{\text{Mol}^{\frac{1}{2}}}{\text{l}^{\frac{1}{2}} \text{ s}} \right)$

pour le bleu de méthylène, soit une baisse de plus de 50% de l'intensité du pic  $(M+2H)^+$  et d'environ 30% pour le pic  $(M+H)^+$ .

Il est important de vérifier si ces résultats se reflètent effectivement dans les procédés réels de réduction, non seulement pour le bleu de méthylène, mais aussi pour les deux autres analytes à l'étude. Il sera ainsi possible de vérifier le rôle direct que joue la matrice dans la réduction induite par le faisceau, et plus exactement l'implication de la chimie radiative des matrices pour expliquer la présence d'espèces réduites dans les spectres LSIMS/FAB.

Une substance commercialement disponible, le triméthylolpropane (TRIM), peut être utilisée à cette fin; cette matrice assez semblable au glycérol, au point de fusion peu élevé, peut donner de bons résultats en première approximation.



Les analyses effectuées avec cette matrice pour les trois analytes ont donné naissance aux valeurs des procédés réels de réduction présentées dans le Tableau 5.6. À titre comparatif, les degrés de réduction obtenus avec le glycérol sont inclus dans le tableau, ainsi que la variation relative des degrés de réduction à l'emploi de TRIM.

L'examen des résultats indique une inhibition significative dans la majorité des cas pour les deux procédés de réduction réels à l'emploi de triméthylolpropane, pourtant aucune tendance claire ne se dégage quant à l'inhibition sélective d'un des procédés par cette matrice. Par exemple, alors que l'usage de la matrice TRIM semble inhiber plus favorablement le procédé

Red<sub>2</sub> du bleu de méthylène (Red<sub>2</sub><sup>GLY</sup> = 39% Red<sub>2</sub><sup>TRIM</sup> = 7,5%; Red<sub>1</sub><sup>GLY</sup> = 44,3% Red<sub>1</sub><sup>TRIM</sup> = 28,5%), c'est la situation inverse qui se dégage pour la rhodamine, alors que le procédé Red<sub>2</sub> pour le cristal violet n'est pas significativement affecté par la nouvelle matrice.

**Tableau 5.6 : Procédés réels de réduction pour MB, VL et RH dans le triméthylolpropane. (0,005M, 14 keV, 1,5 μA)**

	TRIM	GLY	Δ (%) <sup>a</sup>	TRIM	GLY	Δ (%) <sup>a</sup>
	Red <sub>1</sub> (%)			Red <sub>2</sub> (%)		
MB	28,5	44,3	36	7,5	39,0	81
VL	3,1	6,0	48	11,1	12,7	13
RH	1,2	5,2	77	18,8	31,0	39

a= variation relative des degrés de réduction avec GLY et avec TRIM

Cependant, avant de tirer des conclusions sur la base de ces résultats, il ne faut pas oublier que le bris du lien C-H peut s'effectuer de manière homolytique ou hétérolytique, menant à la formation des espèces H<sup>•</sup> et H<sup>+</sup> respectivement. Non seulement l'usage du triméthylolpropane limite la formation de deux espèces potentiellement réactives, mais il n'est pas possible de prévoir le rôle que jouent celles-ci dans chacun des procédés de réduction. Ainsi, H<sup>•</sup> peut tout aussi bien intervenir dans un transfert électronique (H<sup>•</sup> + Analyte<sup>+</sup> → Analyte<sup>•</sup>) que dans une addition (H<sup>•</sup> + Analyte → Analyte +H) avec l'analyte. Il est donc impossible, sur la base de ces résultats seulement, d'imputer au radical H<sup>•</sup> un rôle dans le procédé Red<sub>2</sub> exclusivement. Par conséquent, la seule conclusion que l'on puisse émettre avec certitude est que le carbone central est un site important quant à la génération d'espèces réactives menant à la réduction de l'ion moléculaire, et donc que la matrice

joue un rôle important et direct dans les procédés de réduction induits par bombardement.

### 5.2.2 Validation du mécanisme: approche intuitive

Théberge et al.<sup>86</sup> ont déjà établi une correspondance entre la chimie radiative prenant place sous conditions de bombardement en LSIMS/FAB et la chimie gouvernant les réactions en radiolyse. Il est donc plausible de se référer aux vitesses de réaction du bleu de méthylène avec les électrons et le radical H $\cdot$  obtenues par radiolyse; la constante de vitesse de réaction de MB avec l'électron est de  $2,5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  alors que celle de l'addition du radical H $\cdot$  est de  $1,1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ <sup>108</sup> donc légèrement défavorisée. Une autre étude rapporte que la constante de vitesse pour le transfert électronique entre le bleu de méthylène et le radical  $\cdot\text{CH}_2\text{OH}$  est de  $3,4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ , avec une efficacité de 91%<sup>107</sup>, indiquant que la formation de l'espèce (analyte) $\cdot$  peut être initiée aussi par transfert électronique entre un radical et l'analyte.

### 5.3 Le mécanisme proposé dans le contexte de la littérature actuelle

Il est intéressant de pouvoir comparer le mécanisme proposé ici avec ceux proposés dans la littérature actuelle. Il apparaît que le bombardement d'une solution par des projectiles possédant des énergies de l'ordre du keV a pour conséquence la formation d'électrons dans la matrice via l'ionisation des molécules irradiées. De plus, il s'avère que ces électrons peuvent être des espèces réductrices efficaces.

Williams et al.<sup>93</sup> discutent du rôle que jouent ces électrons dans l'initiation de plusieurs réactions induites par le bombardement, et ainsi, tentent de proposer une généralisation de ces procédés. Les auteurs avancent que ces électrons émergeant de l'ionisation de molécules par le faisceau, se déplacent

rapidement à cause de leurs faibles masses comparativement aux autres molécules en présence. Une fois l'énergie des électrons amortie par de multiples collisions, ces électrons sont susceptibles d'être capturés par des molécules en solution. Évidemment, les molécules ayant les LUMO les plus accessibles seront en mesure de trapper ces électrons de manière préférentielle. Les auteurs avancent de plus que c'est cette capture électronique qui s'avère être l'étape initiatrice de plusieurs réactions induites par le bombardement, telles la déhalogénéation, la réduction  $M^{2+} \rightarrow M^+$ , les réactions  $OH \rightarrow H$  et  $NH \rightarrow H$ .

D'autres auteurs proposent également la capture électronique comme étape initiale vers la formation de plusieurs espèces réduites<sup>12, 19-22, 139</sup>. Il semble donc que cette généralisation du mécanisme qui implique l'électron comme espèce initiatrice des autres réactions subséquentes, apporte un autre élément en faveur du mécanisme proposé ici pour la réduction qui affecte la région de l'ion moléculaire.

#### **5.4 Parallèles entre LSIMS/FAB et la radiolyse**

Le parallèle entre la radiolyse et les techniques de désorption LSIMS/FAB se fait de manière assez rationnelle, si on considère que ces deux domaines d'activités ont en commun la déposition en solution d'une quantité appréciable d'énergie. Field<sup>140</sup> est le premier à relier les espèces observées dans les spectres LSIMS/FAB du glycérol aux espèces produites sous irradiation en radiolyse. Plus récemment, Théberge et al.<sup>88</sup> ont aussi établi une corrélation entre la chimie des matrices utilisées en LSIMS/FAB pour l'étude de la déhalogénéation, et les espèces générées lors de la radiolyse de ces substances. L'auteur a ainsi rationalisé la propension des matrices à inhiber ou favoriser les réactions induites par le bombardement; par exemple, le glycérol doit son caractère réducteur à une cascade radicalaire réductrice sous bombardement et à une faible capacité de la molécule intacte à capter

efficacement les électrons en solution. À l'autre extrême, le caractère inhibiteur de la matrice NBA lui est conféré par sa structure aromatique qui lui permet: a) une résistance aux radiations qui se traduit par un faible rendement de radicaux réactifs et b) une capacité à capter efficacement les électrons.

Ainsi, il est plausible que les matrices aromatiques, possédant une affinité électronique relativement positive, inhibent efficacement la réduction, en court-circuitant le transfert électronique, l'étape initiatrice, qui mène à la formation de l'intermédiaire radicalaire. Il s'avère que le bleu de méthylène est une molécule très bien étudiée en radiolyse, et avant de s'attarder aux résultats publiés sur cette molécule, il serait intéressant de faire un survol de la radiolyse.

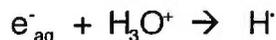
### **a) introduction à la chimie des radiations**

En radiolyse, il semble que les ions et les espèces excitées sont les premières espèces formées en solution après l'absorption de la radiation <sup>141</sup>. De ces espèces découle la formation des radicaux libres, susceptibles d'amorcer des réactions chimiques subséquentes. Les espèces excitées de hautes énergies sont formées en grande quantité en radiolyse, et jouent un rôle important dans les réactions prenant place en radiolyse à cause de leur caractère diradicalaire. Entre autres, ces espèces peuvent participer dans des réactions de transfert électronique selon la réaction :



La radiolyse des molécules organiques est la source d'une variété de produits, mais parmi les espèces communément formées par l'irradiation de solutions, se retrouvent entre autres les radicaux H<sup>•</sup> et les électrons. Les électrons solvatés (e<sup>-</sup><sub>aq</sub>) sont relativement réactifs, et possèdent un potentiel standard de réduction de -2.9V<sup>108</sup>. L'énergie d'activation est de l'ordre de 6-

30 kJ mole<sup>-1</sup>, ce qui implique que le paramètre cinétique dominant est la disponibilité d'une orbitale vacante disponible pour accueillir cet électron. Le radical H<sup>•</sup> peut être défini comme un acide conjugué:



Un peu moins réactif que e<sup>-</sup><sub>aq</sub>, il possède un potentiel de réduction de -2.3V<sup>108</sup>, et il est au coeur de réactions chimiques assez différentes de celles initiées par les électrons.

### **b) la radiolyse du bleu de méthylène**

La radiolyse des pigments organiques est le sujet d'études depuis 1930. Le bleu de méthylène est assurément la substance de sa catégorie la plus étudiée en radiolyse. Cet intérêt est motivé par le fait que plusieurs produits de réaction du bleu de méthylène avec diverses substances mènent à une perte d'aromaticité de la structure <sup>52-53, 131, 137, 142-152</sup>, et donc à une décoloration des solutions irradiées. Cette caractéristique fait du bleu de méthylène un système idéal pour l'étude quantitative de la quantité d'énergie déposée en solution, la dosimétrie. Ce comportement est probablement semblable à celui d'autres teintures soumises à des radiations, et le bleu de méthylène est souvent utilisé comme modèle pour ces autres teintures.

Il est possible de distinguer deux avenues dans la littérature portant sur la radiolyse du bleu de méthylène, soit la littérature récente qui s'applique plus à discerner les espèces réactives prenant part aux réactions élémentaires, et la littérature du début du siècle. Cette dernière ne se préoccupe que de la consommation du produit de départ, signifiée par la disparition de la couleur par la radiolyse des pigments organiques; en ce cas, les études ne s'attardent pas à donner une analyse complète des produits formés sous irradiation.

La plupart de ces publications concernant le bleu de méthylène présentent deux types de décoloration subis par celui-ci: i) celle découlant de

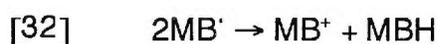
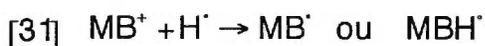
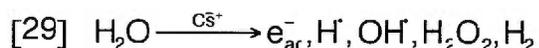
la réaction réversible rédox menant à l'espèce MBH et ii) celle découlant d'une réduction irréversible, réaction prenant place généralement en présence d'oxygène. Cette dernière réaction mène à la formation de tous les produits détruisant le caractère aromatique de la molécule. C'est évidemment la réaction menant à la formation du produit MBH qui attire notre attention, et de ces études en radiolyse, il est possible de soulever plusieurs faits intéressants qui peuvent apporter des explications ou appuyer des résultats observés pour ce système en LSIMS/FAB.

Premièrement, quoique la majorité des études traitant de la radiolyse du bleu de méthylène soient effectuées en milieux aqueux, quelques études traitent tout de même de la radiolyse prenant place en milieu organique. De ces études, il ressort que l'irradiation de solutions glycéroliques de bleu de méthylène mène à une décoloration réversible, et donc à une réduction ayant comme produit l'espèce MBH<sup>148</sup>. Ce résultat corrobore ce qui est généralement observé en LSIMS/FAB pour des solutions glycéroliques de bleu de méthylène.

Deuxièmement, les radicaux organiques sont des agents réducteurs efficaces du bleu de méthylène <sup>144, 149-150</sup>, cependant la facilité avec laquelle ils réagissent dépend de la nature du radical; par exemple, H<sup>•</sup> s'additionne aisément avec les hétéroatomes N et O des cycles aromatiques, mais moins aisément avec C <sup>151</sup>. Ceci pourrait expliquer pourquoi les espèces réduites présentes dans les spectres LSIMS/FAB ne présentent pas de structure (M+nH)<sup>+</sup> où n > 2, la réduction ne découlant pas de la saturation des liens C=C. Visentini<sup>41</sup> observe une relation linéaire entre le nombre de doubles liens de certains peptides et Red<sub>2</sub>, et note un degré de réduction Red<sub>2</sub> de ~0.18% par lien double présent sur la structure du peptide. L'auteur démontre ainsi que la réduction est susceptible de se produire sur n'importe quel C=C. Pour ce qui est du procédé Red<sub>1</sub>, l'auteur montre qu'il n'existe pas de corrélation entre ce degré de réduction et le nombre de doubles liens.

Quant aux espèces responsables de la formation de l'espèce MBH pour le bleu de méthylène, il semble que la capture électronique directe soit en cause plutôt qu'une réaction radicalaire avec le H $\cdot$ . Cette hypothèse est étayée par le fait que la réduction prend place dans le chloroforme (CHCl $_3$ ) ou le tétrachlorure de carbone (CCl $_4$ ) ainsi que dans des solutions solides de polyméthacrylate de méthyle<sup>148</sup>. Il est certain que ceci n'élimine pas le rôle que pourraient jouer les autres radicaux comme intermédiaires dans cette réaction, bien que des mesures de résonance paramagnétique du système irradié pigment-polymère indiquent que les électrons sont trappés partiellement par le pigment et partiellement par le plastique<sup>148</sup>.

Un mécanisme général pouvant être appliqué pour plusieurs pigments organiques a été proposé par Grossweiner et al.<sup>152</sup> pour des solutions aqueuses de MB:



Les auteurs expliquent la formation de l'espèce MB $\cdot$  en deux étapes, dont la plus rapide serait vraisemblablement une capture électronique suivant la réaction [30]. Pour ce qui est de la réaction prenant place en milieu organique, l'auteur suggère la réaction [33] pour expliquer le transfert électronique entre le solvant Q et le cation du bleu de méthylène.



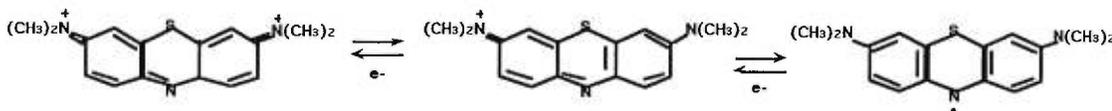
Un mécanisme semblable est proposé par d'autres auteurs<sup>131</sup>. Par ailleurs, le schéma mécanistique proposé par l'étude de Resch<sup>137</sup> est de fait très semblable à celui proposé par Huyser<sup>122</sup>, avec une cinétique essentiellement identique; le transfert électronique mène à la formation de l'espèce MB<sup>•</sup> et du radical thyle alors que la formation de l'espèce MBH découle d'une addition radicalaire de H<sup>•</sup> provenant de la matrice irradiée.

Quant à la littérature plus récente, il est possible d'y retrouver plusieurs indices intéressants qui permettent encore une fois d'étayer et de raffiner l'hypothèse mécanistique proposée dans notre étude. Dès les débuts de la caractérisation de la molécule de bleu de méthylène, il a été reconnu que cette substance n'obéissait pas à la loi de Beer, et ce même à des concentrations aussi faibles que  $1 \times 10^{-7}$  M. C'est la forme dimérique  $[\text{MB}]_2^{+2}$  qui est responsable de cette déviation; c'est donc dire que la proportion de dimère en fonction du monomère varie en fonction de la concentration, avec une plus forte concentration de dimères à haute concentration.

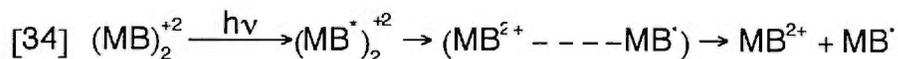
Lowe et al.<sup>52</sup> affirment que la formation de l'espèce leuco-bleu de méthylène à partir de l'analyte s'effectue en deux étapes consécutives, soit une capture électronique suivie d'une addition du radical H<sup>•</sup>. Mais, détail intéressant, les auteurs imputent au complexe dimérique du bleu de méthylène  $[\text{MB}]_2^{+2}$  un rôle important vers la formation de l'espèce radicalaire MB<sup>•</sup>, et cette affirmation rejoint une autre étude<sup>59</sup>. On peut définir les formes réduites et oxydées du bleu de méthylène de la manière suivante :



ou alors :



Lowe et al.<sup>52</sup> suggèrent que la formation du radical  $MB^{\cdot}$  découle d'un transfert électronique interne au sein du dimère  $(MB)^{+2}_2$  subséquent à l'irradiation de la solution:



Il semble que cet état intermédiaire  $[MB^{2+} \text{ --- } MB^{\cdot}]$  ait une durée de vie relativement longue, de l'ordre de  $\approx 140 \mu\text{sec}$ .

Ceci étaye davantage l'hypothèse proposée en début de chapitre, qui attribue la formation de l'espèce  $Red_1$  à une capture électronique plutôt qu'à une attaque radicalaire; il appert donc que la formation de l'espèce radicalaire  $MB^{\cdot}$  puisse procéder d'une part, par transfert électronique intermoléculaire entre  $MB^+$  et une espèce réactive générée sous bombardement de la matrice et d'autre part, par transfert électronique intramoléculaire au sein de l'espèce dimérique  $(MB^{2+} \text{ --- } MB^{\cdot})$ . Ceci laisse supposer que ce dernier mécanisme jouera un rôle plus important aux concentrations où le dimère constitue une proportion importante des espèces en solution.

Cette hypothèse pourrait expliquer en partie, certains des résultats obtenus pour la réduction en LSIMS/FAB. Par exemple, le degré de réduction  $Red_1$  est considérable pour le bleu de méthylène en solution glycérolique de 0,1M; il est bien entendu que ceci est lié à la plus grande affinité électronique du bleu de méthylène relativement aux deux autres analytes. Mais tel qu'illustré au Tableau 5.7, une hausse de la concentration de cet analyte, près de la limite de saturation ne semble pas avoir un impact aussi probant que pour les deux autres analytes sur le premier procédé de réduction. Il est vrai

que les procédés Red<sub>1</sub> pour VL et RH sont peu significatifs (< 10%), et une diminution des molécules de matrice autour des molécules d'analyte auront vraisemblablement plus d'effet sur ces deux analytes.

**Tableau 5.7 : Degré de réduction Red<sub>1</sub> pour les trois analytes dans le glycérol (0,005 M et 0,1 M, 1,5 μA, 14 keV)**

Analyte	0,005M	0,1M
	Red <sub>1</sub> (%)	
MB <sup>+</sup>	44,3	29,8
VL <sup>+</sup>	6,0	0,0
RH <sup>+</sup>	5,2	1,4

À une concentration de 0,1M, le rapport analyte:matrice est de 1:137; le fait que le degré de réduction pour le bleu de méthylène soit près de 30% dans cette condition pourrait indiquer que le dimère, dont la formation est privilégié à haute concentration de l'analyte, pourrait participer au transfert électronique menant à la forme radicalaire MB<sup>•</sup>.

Les deux autres analytes forment également des dimères, mais ces formes sont moins stables que le dimère du bleu de méthylène. Ainsi, la constante de dissociation du dimère du bleu de méthylène est de  $1.7 \times 10^{-4}$  M, alors que celle de la rhodamine est de  $4,8 \times 10^{-4}$  M, donc (MB<sub>2</sub>)<sup>2+</sup> est plus stable que (RH<sub>2</sub>)<sup>2+</sup>. Une autre indication qui semble corroborer le rôle que joue le dimère (MB<sub>2</sub>)<sup>2+</sup> dans le mécanisme de réduction se trouve dans les degrés de réduction obtenus dans le NBA, tel que présenté au Tableau 5.8. Il a été démontré au chapitre précédent que le NBA, une molécule extrêmement efficace dans la capture des espèces réactives susceptibles d'initier diverses réactions de réduction, conserve son caractère inhibiteur même aux densités de faisceau les plus élevées. Pourtant, les résultats du Tableau 5.8 indique

que l'usage de NBA avec le bleu de méthylène donne tout de même près de 8% de procédé Red<sub>1</sub>; de plus, alors que les procédés sont consécutifs, le NBA se trouve en mesure d'éliminer totalement Red<sub>2</sub> pour cet analyte. Il est plausible d'imaginer que le NBA est beaucoup moins efficace à trapper les électrons, si ce transfert électronique se produit de façon intramoléculaire au sein du dimère. Cependant, il est possible qu'il existe des électrons encore libres dans cette matrice et susceptibles d'initier la réduction.

Somme toute, ces derniers résultats ne confirment pas avec certitude le rôle que pourrait jouer le dimère du bleu de méthylène dans la formation de l'espèce (M+H)<sup>+</sup> en LSIMS/FAB. Cependant, il faut garder à l'esprit que (MB<sub>2</sub>)<sup>2+</sup> est une espèce relativement stable en solution, et que Lowe et al.<sup>53</sup> ont démontré qu'elle prenait part à la formation du radical MB•.

**Tableau 5.8 : Degré de réduction Red<sub>1</sub> et Red<sub>2</sub> pour les trois analytes dans le NBA (0,1M, 1,5 μA, 14 keV)**

Analyte	Red <sub>1</sub> (%)	Red <sub>2</sub> (%)
<b>MB</b>	7,9	0
<b>VL</b>	0	0
<b>RH</b>	0	0

En résumé, il semble que la réaction de réduction affectant la région de l'ion moléculaire des pigments organiques en LSIMS/FAB est assez similaire aux réactions de réduction initiées par la radiolyse de ces substances.

### 5.5 Hypothèse mécanistique en bref

Au cours de ce chapitre, il nous a été donné de proposer et vérifier un mécanisme réactionnel plausible susceptible d'expliquer les résultats expérimentaux obtenus pour la réduction induite par le bombardement. Puis, il

a été possible de raffiner le mécanisme en s'appuyant sur plusieurs aspects; à ce stade, il est donc possible de résumer l'hypothèse mécanistique la plus plausible pour les systèmes à l'étude:

- les deux réactions de réduction sont consécutives et se produisent vraisemblablement en phase condensée
- la première étape menant à la formation de l'espèce radicalaire  $M^{\cdot}$  est initiée par capture/transfert électronique. Cette étape peut impliquer une simple capture d'électron, ou la participation de la matrice ou de radicaux réactifs à un transfert électronique avec l'analyte.
- dans le cas du bleu de méthylène, il est possible qu'un transfert électronique au sein du dimère, menant à la formation de  $MB^{\cdot}$ , puisse contribuer au mécanisme réactionnel de réduction. Ce mécanisme aura un rôle plus important aux concentrations où le dimère constitue une proportion importante des espèces en solution.
- la deuxième étape s'effectue par addition radicalaire de  $H^{\cdot}$  au radical  $M^{\cdot}$
- alors que l'espèce  $M^{\cdot}$  prend naissance dans les couches plus en surface de la gouttelette, l'espèce  $MH$  requiert la participation de couches de la matrice plus au coeur de la gouttelette pour sa formation
- la matrice joue un rôle direct dans le procédé de réduction; la réduction n'est pas la conséquence directe de l'interaction d'un projectile avec l'analyte

## 5.6 Corroboration du mécanisme à l'aide des résultats expérimentaux

L'irradiation de la matrice génère des espèces réactives, en grande partie des électrons, tout près de la surface. La formation de  $(M+H)^+$ , qui est initiée par capture électronique, se produit près de la surface.

Donc, tous les paramètres expérimentaux qui affecteront la concentration d'électrons ou d'espèces radicalaires réductrices, auront un effet direct sur la production d'espèces réduites. C'est ce que nous avons observé pour l'usage d'additifs ou de matrices qui ont le potentiel de trapper les électrons. Plus l'affinité électronique de la matrice sera grande relativement aux analytes, plus elle aura la capacité d'inhiber la réduction. Le Tableau 3.2 expose les matrices en ordre croissant d'affinité électronique, avec I < II < III, et ce classement est corroboré par les degrés de réduction obtenus pour nos analytes dans ces matrices.

Tous les paramètres expérimentaux qui modifieront la concentration de l'analyte en surface, affecteront par le fait même le degré de réduction  $Red_1$ . C'est le cas d'une augmentation de la concentration de l'analyte, qui modifie le rapport molécules de matrice / molécules d'analyte, et par le fait même, diminue le nombre d'espèces réactives découlant de l'irradiation de la matrice. Une inhibition du procédé  $Red_1$  est aussi obtenu avec l'usage d'additifs tensio-actifs (LDS et CSA). Enfin, l'usage de matrice ayant une tension de surface faible (HEX) diminuent la concentration en surface des analytes, endroit où se forment une grande quantité d'espèces réactives, et c'est ce qui explique que ces dernières inhibent aussi  $Red_1$ .

Le modèle cinétique définit la vitesse de formation de  $(M+H)^+$  par capture d'un électron (équation [6]) et celle de  $(M+2H)^+$  par un radical  $H^\cdot$  (équation [18]). L'équation [6] indique que la formation de  $(M+H)^+$  est directement

proportionnelle à l'intensité du faisceau. Par contre, si la formation de l'espèce  $(M+H)^+$  se produisait par abstraction radicalaire (équation [7]),  $Red_1$  n'aurait pas de dépendance à l'intensité du faisceau, ce qui est contraire à ce que nous observons expérimentalement. Quant à la formation de l'espèce  $(M+2H)^+$ , l'équation [18] démontre une relation plus complexe, i.e. non linéaire entre l'intensité du faisceau et le degré de formation de cette espèce. Les coefficients de corrélation pour l'effet de la densité de faisceau sur  $Red_n$  démontre une relation qui se situe entre le premier et deuxième ordre au moins.

Pour ce qui est de l'espèce  $(M+2H)^+$ , sa formation est consécutive à celle de l'espèce  $(M+H)^+$ , donc tout paramètre expérimental qui inhibe  $Red_1$  aura un effet sur  $Red_2$ . Puisque la formation de  $(M+2H)^+$  est proportionnelle à la concentration globale d'hydrogène, il est plausible que la formation de cette espèce réduite prenne place un peu plus profondément dans la gouttelette. Puisque c'est la migration vers la surface qui induit des effets de temps, il est cohérent que ce soient les procédés  $Red_2$  qui affichent cette dépendance au temps d'irradiation. De la même manière, l'énergie du faisceau affecte le degré de réduction  $Red_2$  parce que ce paramètre contrôle la pénétration des projectiles au sein de la gouttelette, endroit où l'espèce  $(M+2H)^+$  est formée.

## **CHAPITRE 6**

## **CONCLUSION**

La proposition d'un mécanisme pour les procédés de réduction affectant l'ion moléculaire est tributaire d'une quantification adéquate de ces procédés. En effet, l'usage du signal brut provenant des spectres pour cerner le détail mécanistique peut s'avérer équivoque; le signal de la région de l'ion moléculaire résulte de la convolution du signal de fond, et des signaux des espèces réduites et de l'analyte accompagnés de leur signature isotopique respective. Ainsi, sous diverses conditions expérimentales, chacun de ces signaux contribuera de manière différente au signal total observé. De ceci découle la nécessité de devoir isoler la contribution respective des signaux afin d'étudier le comportement des procédés de réduction sous certaines conditions expérimentales; ce n'est que dans cette situation qu'il sera possible de tirer des conclusions valables sur ces procédés, conclusions qui seront à la base de l'ébauche d'un mécanisme plausible. Le développement d'un outil informatique approprié (SIMBROC) pour cette tâche a fait l'objet d'une thèse antérieure.

De l'étude comparative effectuée pour nos composés modèles découlent plusieurs résultats intéressants. Par exemple, l'obtention des procédés de réduction réels en fonction de la concentration de l'analyte corrobore les résultats cités dans la littérature pour les procédés apparents, soit que la relation entre ces deux paramètres est inversement proportionnelle. Cependant, les résultats déconvolués apportent des indices supplémentaires sur le comportement des procédés de réduction, par exemple que le procédé  $\text{Red}_2$  est plus sensible à une variation de la concentration de l'analyte que le procédé  $\text{Red}_1$ . Un autre fait intéressant ressort du comportement des procédés  $\text{Red}_n$  en fonction de la concentration; en effet, ces courbes révèlent l'influence de la distribution de l'analyte dans la gouttelette sur les procédés  $\text{Red}_n$ . Ainsi, il s'avère que le procédé  $\text{Red}_1$  prend naissance dans les couches en surface de la solution, alors que le procédé  $\text{Red}_2$  nécessite l'intervention des couches plus au coeur de la solution.

Le fait que les deux procédés réels de réduction ( $\text{Red}_1$  et  $\text{Red}_2$ ) prennent place en des endroits différents de la gouttelette explique en partie que certains paramètres expérimentaux les affectent de manière différente. Par exemple, le temps d'irradiation d'une solution de bleu de méthylène de faible concentration induit une variation notable du procédé  $\text{Red}_2$  dans le temps alors que le procédé  $\text{Red}_1$  demeure relativement insensible à ce paramètre tout au long de l'expérience. Cette sensibilité de  $\text{Red}_2$  au temps d'irradiation s'explique par la migration de l'espèce  $(\text{M}+2\text{H})^+$  vers la surface. Puisque l'espèce  $(\text{M}+\text{H})^+$  est formée en surface, le degré  $\text{Red}_1$  n'est pas sensible au temps d'irradiation.

Un autre indice démontre la relation entre la concentration en surface de l'analyte et le degré de réduction; l'usage d'une matrice analogue au glycérol, mais ayant une tension de surface plus faible, donne un procédé de réduction  $\text{Red}_1$  moins important. En effet, dans une matrice où les interactions intermoléculaires sont fortes (pont hydrogène), la tension de surface est élevée. De manière à réduire cette tension de surface, les analytes auront tendance à migrer vers la surface. Par contre, une plus faible tension de surface de la matrice implique une saturation moindre de la surface par l'analyte. Nos résultats semblent indiquer que la formation de l'espèce  $(\text{M}+\text{H})^+$  se produit en surface. Cette relation entre la concentration en surface de l'analyte et le degré de réduction  $\text{Red}_1$  est exposée dans les résultats obtenus expérimentalement avec des additifs tensio-actifs.

Les résultats révèlent aussi que la nature de la matrice joue un rôle important et régit le degré de réduction  $\text{Red}_1$  et  $\text{Red}_2$  que subit le système, témoignant du rôle direct que joue la matrice dans le procédé de réduction. Il appert que la capacité de la matrice à trapper les espèces réactives a des répercussions importantes sur la formation d'espèces réduites sous bombardement. De la même manière, tous les additifs qui ont la capacité de trapper les espèces réductrices auront un effet sur les procédés de réduction.

La variation de la densité du faisceau affecte bien les procédés de réduction, corroborant ainsi les résultats rapportés dans la littérature concernant les procédés apparents. Or, les procédés réels révèlent l'influence de la densité de faisceau sur les courbes de concentration; alors qu'une variation à la hausse de la densité du faisceau entraîne un décalage de la courbe de concentration  $Red_1$ , celle du procédé  $Red_2$  demeure essentiellement inchangée.

Une explication plausible repose sur le fait que la variation de la densité du faisceau affecte le nombre de projectiles atteignant la surface par unité de temps; une augmentation du nombre de projectiles entraînera nécessairement une plus grande production de  $(M+H)^+$ , procédé formé près de la surface mais pas nécessairement de  $(M+2H)^+$ , qui prend naissance plus profondément dans la solution. Les espèces  $(M+H)^+$  étant plus près de la surface, la désorption est plus probable que la redistribution vers le coeur de la solution pour une réaction successive vers la formation de  $(M+2H)^+$ .

Les résultats déconvolués indiquent aussi qu'une variation de ce paramètre fait subir, à la courbe de concentration du procédé  $Red_2$  seulement, un décalage important. Puisque l'énergie du faisceau contrôle la profondeur de pénétration des projectiles, il est plausible que ce paramètre affecte exclusivement le procédé prenant naissance plus profondément dans la solution.

Il est difficile en regardant simplement un système de prévoir quelles seront les espèces générées sous bombardement et donc, quelles seront les réactions subséquentes. L'observation des comportements réels en fonction des paramètres expérimentaux n'apporte pas plus d'indication sur l'identité des espèces réactives menant à la formation des ions  $(M+H)^+$  et  $(M+2H)^+$ . En effet, la formation de l'espèce  $(M+H)^+$ , qu'elle provienne d'une capture électronique ou d'une réaction radicalaire, produira une espèce isobare à l'ion

isotopique de l'analyte  $(M+1)^+$ . De plus, il existe un grand nombre de réactions possibles sous les conditions d'irradiation, et celles-ci sont distinctes pour chaque couple analyte/matrice.

C'est en développant un modèle cinétique que nous arrivons à proposer un mécanisme plausible qui régit la formation des espèces réduites. Il appert que la formation de l'espèce  $(M+H)^{+}$  procède par une capture électronique par l'analyte  $M^+$ , alors que la formation de l'espèce  $(M+2H)^+$  implique une réaction radicalaire avec  $H\cdot$ . Ces deux procédés sont successifs et plusieurs moyens ont été employés pour étayer cette hypothèse mécanistique. L'obtention par calcul semi-empirique des affinités électroniques de nos analytes et la corrélation linéaire de ce paramètre avec  $Red_1$ , nous permet d'exclure la possibilité qu'une abstraction d'hydrogène mène à la formation de  $(M+H)^{+}$ . Il nous a été également possible de valider notre mécanisme à partir de l'étude cinétique de la réaction rédox du bleu de méthylène avec les thiols<sup>122</sup>.

Par exemple, il semble que le radical  $RS\cdot$ , qui découle de l'irradiation de la matrice de thioglycérol, inhibe efficacement les réactions de déhalogénéation<sup>88</sup>. Ce radical est aussi le produit de plusieurs réactions élémentaires dans le mécanisme rédox proposé par Huyser<sup>122</sup> pour expliquer la réaction spontanée entre les thiols et le bleu de méthylène. Donc, une irradiation des solutions de bleu de méthylène/thioglycérol devrait induire une formation des radicaux  $RS\cdot$ , et donc déplacer vers la gauche l'équilibre des réactions élémentaires. C'est ce qui est vérifié expérimentalement, alors que l'irradiation induit la régénération de l'ion  $M^+$  au détriment des espèces réduites. De plus, la couleur de l'échantillon demeuré sur la cible après le bombardement est un indice visuel supplémentaire, qui indique que la variation dans le spectre témoigne d'une réaction en solution.

L'aspect le plus important est que le mécanisme avancé explique parfaitement tous les résultats expérimentaux obtenus pour nos trois analytes,

sous toutes les conditions expérimentales. Il semble donc que l'hypothèse mécanistique soit juste, et de plus, celle-ci rejoint l'hypothèse avancée par quelques auteurs qui proposent que tous les procédés induits par bombardement sont initiés par la capture électronique pour des composés ayant des LUMO de faibles énergies<sup>93,14</sup>. On retrouve également une preuve supplémentaire de la validité du mécanisme proposé dans la littérature de la radiolyse des teintures organiques.

Somme toute, il a été possible d'avancer un mécanisme réactionnel plausible pour la réduction des teintures organiques sous irradiation, en accord avec les résultats expérimentaux obtenus. De plus, il semble que ce mécanisme soit universel, car il cadre bien avec l'idée générale véhiculée dans la littérature concernant la réduction. Ce mécanisme trouvera confirmation dans l'étude d'autres systèmes chargés et éventuellement de systèmes neutres, pour vérifier si ce schème s'applique aussi dans ces cas.

## **ANNEXE**

### **DESCRIPTION DU MODÈLE HOMOGÈNE ET DU MODÈLE ENRICHISSEMENT DE SURFACE**

Dans le cadre des études des procédés de réduction affectant la région de l'ion moléculaire de divers peptides, Visentini<sup>41</sup> souligne l'effet que semble avoir le ratio analyte/matrice sur le degré de réduction subi par l'analyte sous bombardement. Afin d'obtenir des renseignements sur le mécanisme impliqué dans ces procédés de réduction, l'auteur a proposé des modèles théoriques de distribution spatiale de l'analyte en solution dans l'aliquot échantillonné. Relativement au faisceau, le point d'impact représente en fait une surface plane, mais ces modèles reposent sur une approximation sphérique du volume de la gouttelette. La présente annexe vise à exposer les modèles théoriques qui ont été développés par Visentini<sup>41</sup>.

### **Modèle Homogène**

Pour fin de simplification de calculs, la molécule de glycérol est considérée comme étant sphérique. Les volumes des molécules d'analytes ont été déterminés à l'aide de l'option CHEMPLUS du logiciel HYPERCHEM 4.5.

On pose que le rayon,  $R_M$  de la molécule de glycérol est  $4.71 \text{ \AA}^{154}$ . On obtient le volume de la molécule de glycérol,  $V_m$ , par l'équation suivante:

$$[1] \quad V_m = \frac{4}{3} \pi R_m^3$$

Le nombre de molécules d'analyte,  $N_A$  présent dans un volume de  $2 \mu\text{L}$ , est donné par l'équation suivante, où  $C$  est la concentration de l'analyte (mol/L) et  $L_A$  est le nombre d'Avogadro (molécules/mole):

$$[2] \quad N_a = C L_A \left( 2 \times 10^{-6} \right)$$

On peut calculer de manière similaire, le nombre de molécules de glycérol,  $N_M$ , présent dans l'aliquot de  $2 \mu\text{L}$ . Pour ce faire, on utilise l'équation suivante où  $\rho_{\text{gly}}$  représente la densité (1.261 g/mL) et  $AM_{\text{gly}}$  est la masse moléculaire moyenne (92.09 g/mol) du glycérol:

$$[3] \quad N_m = 1000 \frac{\rho_{gly}}{AM_{gly}} L_A \left( 2 \times 10^{-6} \right)$$

La cible utilisée pour chaque expérience possède une surface (PT) de 7 mm<sup>2</sup> (7 X 10<sup>14</sup> Å<sup>2</sup>), ce qui signifie que le volume d'une monocouche de molécules d'analytes  $V_L$  serait donné par l'équation suivante, où  $R_A$  est le rayon de l'analyte en angströms:

$$[4] \quad V_L = PT \ 2 \ R_A$$

On peut calculer le nombre total de couches (TNL) contenu dans la gouttelette en divisant le volume total ( $V_T$ ) de 2 µL, (2 X 10<sup>21</sup> Å<sup>3</sup>), par le volume d'une couche  $V_L$ , tel que démontré dans l'équation suivante:

$$[5] \quad TNL = \frac{V_T}{V_L}$$

Étant donné que l'on assume une distribution uniforme de l'analyte dans l'aliquot, le nombre de molécules d'analyte par monocouche,  $N_{AL}$ , peut être obtenu en divisant le nombre total de molécules d'analytes comprises dans le volume de 2 µL par le nombre total de monocouches présentes dans le système:

$$[6] \quad N_{AL} = \frac{N_A}{TNL}$$

On peut aussi obtenir, de manière similaire, le nombre de molécules de glycérol par monocouche,  $N_{ML}$ :

$$[7] \quad N_{ML} = \frac{0.62 \ N_M}{TNL}$$

Le facteur de correction 0.62 est employé pour remédier au fait que dans un espace en trois dimensions, un réseau de molécules sphériques empilées comporte 38% de volume mort. L'équation [7] assume que chaque monocouche est composée de molécules de glycérol exclusivement. Cependant dans une solution, les molécules d'analytes vont nécessairement déplacer quelques molécules de glycérol; il en résulte que la valeur  $N_{ML}$  calculée plus haut est en fait surestimée. En apportant une correction pour la

présence des molécules d'analyte, on peut obtenir une nouvelle valeur pour  $N_{ML}$  telle que présentée ci-dessus:

$$[8] \quad N_{ML} = \frac{0.62 \quad N_M - \alpha N_A}{TNL}$$

où  $\alpha$  représente le ratio de  $V_A$  sur  $V_M$ .

Si on pose comme hypothèse que la matrice joue un rôle important dans les procédés de réduction, alors le degré de réduction peut être relié à la proportion de matrice relativement à l'analyte (R) présente dans chaque monocouche:

$$[9] \quad R = \frac{N_{ML}}{N_{AL}}$$

La représentation schématique du modèle homogène est présentée dans la Figure I.1. Les ratios R du modèle homogène calculés pour l'échelle de concentrations d'intérêt sont présentés dans le graphe de la Figure I.1b.

### **Modèle d'enrichissement de surface**

Puisque les analytes étudiés présentent des activités de surface différentes et aussi parce que ceux-ci sont préchargés en solution, il est possible que les ions migrent vers la surface, et donc que la distribution de ceux-ci ne soit pas uniforme dans l'aliquot. La Figure I.2 présente cet état de fait, i.e. un enrichissement de la surface de la gouttelette. Dans ce cas, en deçà d'une certaine concentration critique, les molécules d'analyte vont en fait saturer les couches en surface, alors que le reste de la gouttelette sera composé essentiellement de molécules de matrice.

On présente mathématiquement cet état de fait en commençant tout d'abord par une saturation complète de la surface dans un système à monocouche (Figure I.2a). Pour chaque concentration étudiée, le volume de la solution de 2  $\mu$ L contiendra  $N_A$  nombre de molécules d'analyte, tel que calculé par

a)

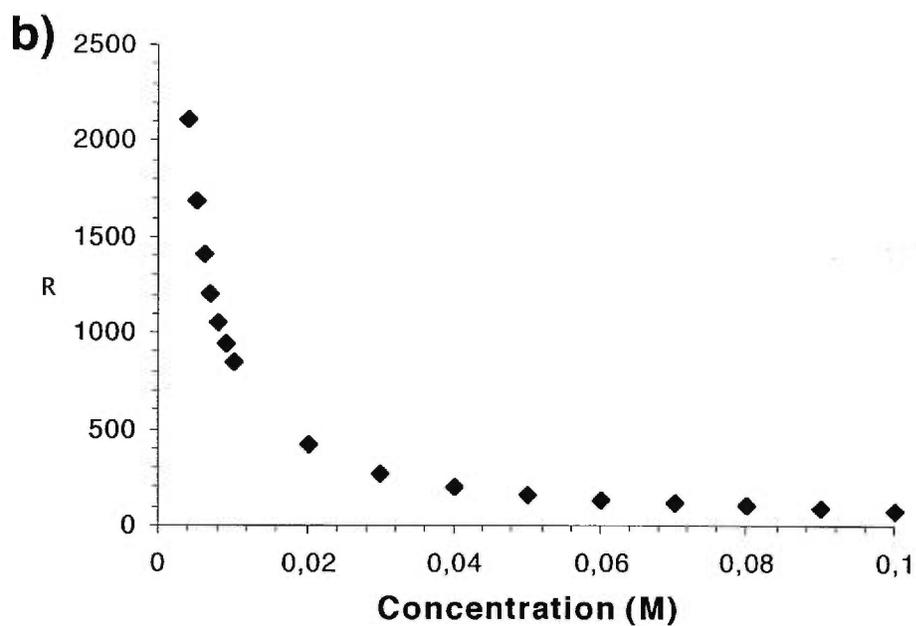
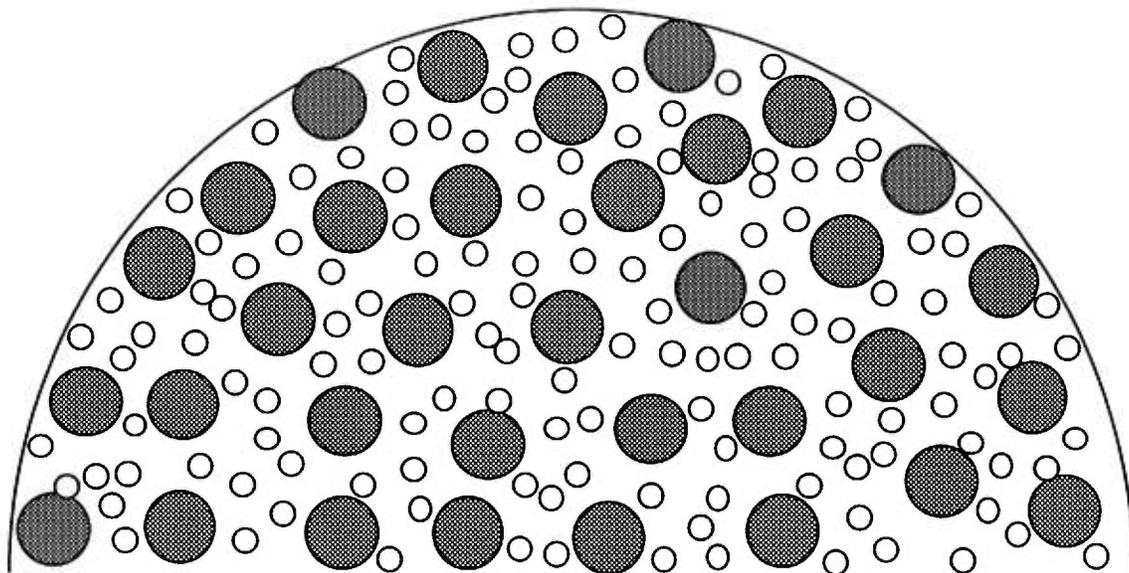


Figure I.1

a) Représentation schématique d'une distribution homogène de l'analyte (•) parmi la matrice (°) et b) courbe de concentration théorique pour le modèle homogène

l'équation [2]. Or, dans le cas du modèle d'enrichissement de la surface, les molécules d'analyte ne se trouvent pas distribuées uniformément dans le volume de l'aliquot. On aura par exemple dans un cas extrême, une saturation complète de la surface par l'analyte où toutes les molécules occuperont seulement les couches en surface, au lieu d'être distribuées parmi les couches totales du système TNL. L'équation [10] présente donc le calcul du nombre de couches  $n_{\min}$  que l'analyte occupera:

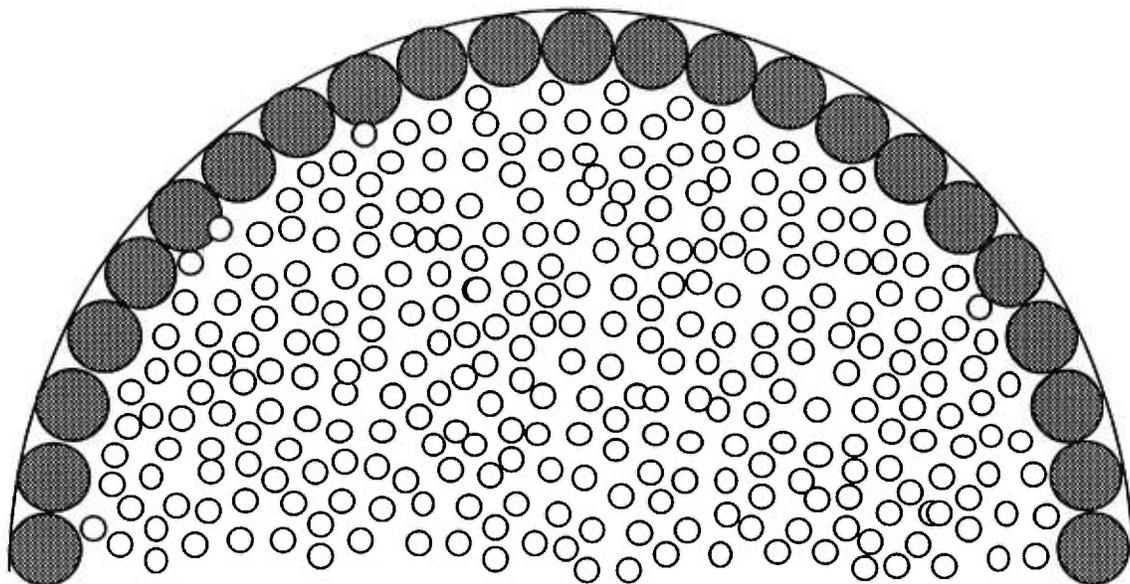
$$[10] \quad n_{\min} = \frac{N_A V_A}{V_L}$$

Dans cette équation,  $N_A$  représente le nombre total de molécules d'analytes dans le système,  $V_A$  donne le volume d'une molécule d'analyte et  $V_L$  correspond au volume occupé par une couche exclusivement composée de molécules d'analyte. On pose, pour ces conditions, que le degré de réduction peut être déterminé par un ratio (R) calculé par l'équation suivante:

$$[11] \quad R \approx \frac{0.62 \frac{N_m - \alpha N_A}{\text{TNL}}}{\frac{N_A}{n_{\min}}}$$

où les molécules de matrice sont distribuées uniformément dans le total des couches (TNL) alors que les molécules d'analytes occupent seulement les couches  $n_{\min}$ . Les valeurs de R obtenues pour les concentrations étudiées sont présentées en fonction de ces mêmes concentrations dans la Figure I.3a. Tel que démontré dans cette figure, on voit que dans le cas où l'analyte sature complètement la surface, le modèle prédit que dans l'échelle de concentration étudiée, le degré de réduction ne devrait pas être sensible à la concentration de l'analyte en solution.

a)



b)

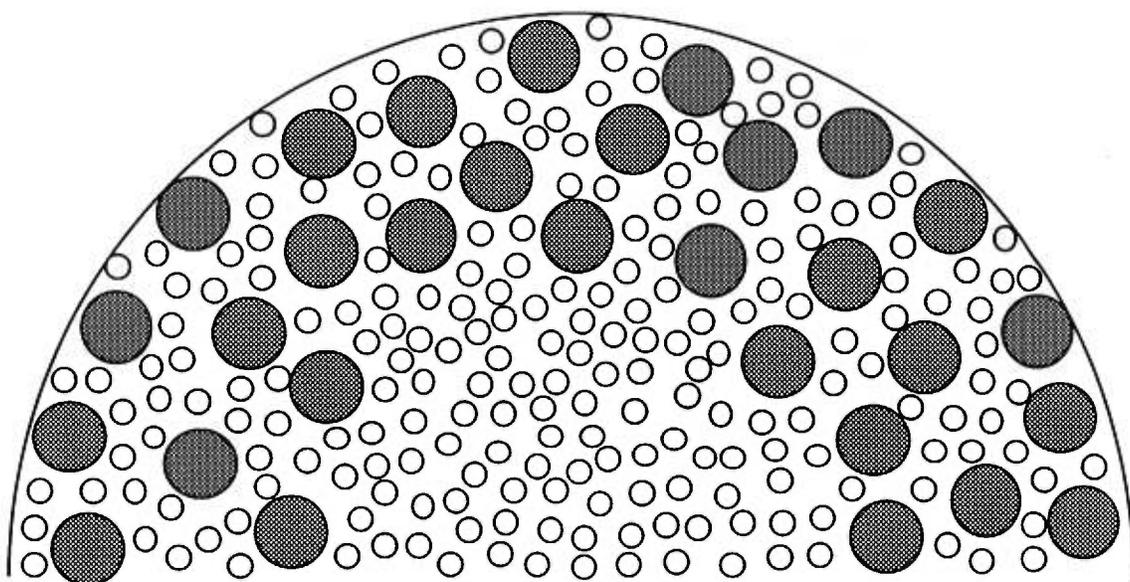


Figure I.2

Modèle d'enrichissement de surface pour a) une distribution monocouche et b) une distribution multicouche. (analyte • matrice °)

Une autre distribution spatiale de l'analyte à travers la solution est possible. Au lieu de migrer complètement vers la surface, l'analyte peut se distribuer en plusieurs couches de surface tel que démontré dans la Figure I.2b. Afin de considérer les possibilités de distribution spatiale entre ces deux cas limites, l'équation [11] peut être modifiée de manière à inclure une variable constante (X). Celle-ci représente le nombre de couches que l'analyte occupe; ainsi pour des conditions expérimentales où l'analyte sature la surface et se distribue en 10 000 couches de plus, alors X prendra la valeur de 10 000. L'équation suivante expose la modification:

$$[12] \quad R \approx \frac{\frac{0.62 \quad N_m - \alpha N_A}{\text{TNL}}}{\frac{N_A}{n_{\min} + X}}$$

Donc, pour un cas extrême de saturation de la surface, X prendrait la valeur de zéro, redonnant ainsi l'équation [11] qui exprime une saturation par une monocouche. Au fur et à mesure que la distribution de l'analyte se produira sur un nombre croissant de couches, la valeur de X croîtra de même jusqu'à une valeur maximale où  $n_{\min} + X$  deviendra le nombre total de couches dans le système, TNL. Cette condition limite correspond donc au modèle de distribution homogène de l'analyte en solution tel que décrit précédemment. Pour une valeur de  $n_{\min} + X$  qui approche TNL, on aura une simplification de l'équation ci-haut pour donner l'équation [13]

$$[13] \quad R \approx \frac{0.62 \quad N_m - \alpha N_A}{N_A}$$

De la même manière, les ratios découlant de ces distributions intermédiaires relativement aux concentrations sont présentées à la Figure I.3. Les graphes qui y sont présentés donnent les courbes pour des distribution sur  $n_{\min}$ ,  $n_{\min} + 10000$  et  $n_{\min} + 50000$  couches. On peut observer que

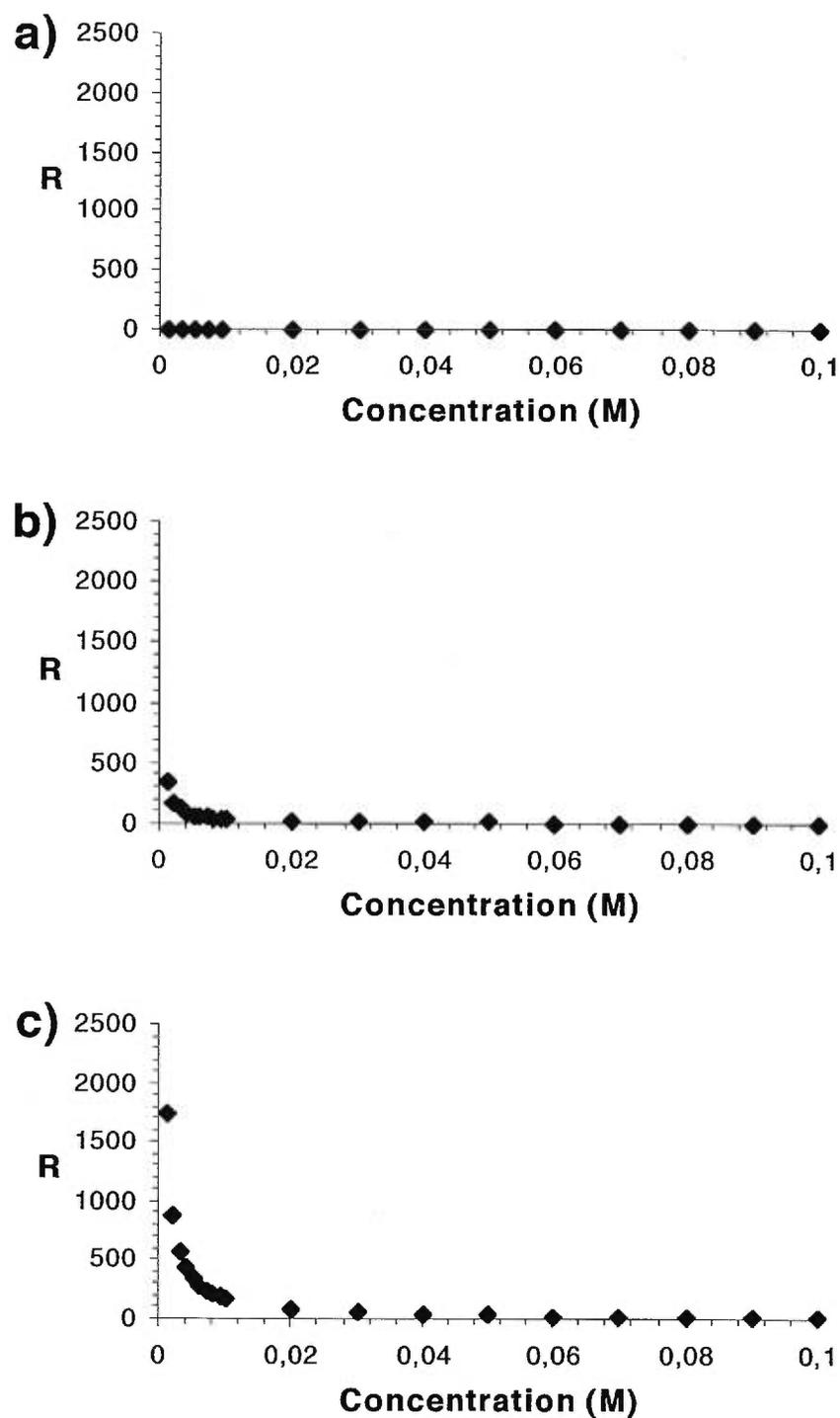


Figure I.3

Courbe de variation du ratio matrice-analyte (R) pour une distribution de a)  $n_{\min}$  b)  $n_{\min} + 10000$  et c)  $n_{\min} + 50000$  couches.

l'accroissement du nombre de couches occupées par l'analyte se traduit par une courbe de moins en moins dépendante de la concentration.

### **Comparaison des modèles avec les données expérimentales**

Avant de comparer les résultats obtenus expérimentalement avec ces courbes théoriques, on doit prendre certaines précautions. Premièrement, le facteur scalaire entre les courbes  $Red_n$  obtenues expérimentalement et les courbes des ratios  $R$  obtenues à l'aide des modèles n'est pas connu. Pour cette raison, les comparaisons seront effectuées en gardant les deux échelles constantes.

Deuxièmement, le degré de réduction observée à haute concentration est généralement dépendant de la nature du composé analysé. Cet état de fait peut provenir des potentiels de réduction différents pour chaque analyte ou d'une réaction de dismutation. Or, les modèles ne tiennent pas compte de ces caractéristiques spécifiques des composés analysés. Puisque les deux modèles théoriques convergent à hautes concentrations et pour minimiser les erreurs, les courbes théoriques sont décalées pour coïncider avec les valeurs de réduction expérimentales pour les échantillons les plus concentrés, valeurs qui se retrouvent dans la région du plateau des courbes de concentration. Ce décalage des courbes modèles qui traduit une réaction de dismutation et une réduction dépendante du potentiel de réduction inhérent à l'analyte peut se traduire dans l'équation suivante:

$$R' = R_0 + R \quad [14]$$

Ce sont donc ces valeurs de  $R'$  calculées pour les divers modèles qui donnent des courbes en fonction de la concentration comparables ensuite au degré de réduction obtenu expérimentalement.

## Bibliographie

1. Burlingame A.L. et Castagnoli N. in *Mass spectrometry in the health and life sciences*, Elsevier, New York, 1985.
2. Hites R. A. "Mass spectrometry and the environmental sciences." *Int. J. of Mass Spectrom. and Ion Proc.* **118/119** (1992): 369-380.
3. Barber M., Bordoli R. S., Sedgwick R. D. et Tyler A. N. "FAB of solids: A new source for mass spectrometry." *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1981): 325-327.
4. Busch K. L. et Cooks R. G. "Mass spectrometry of large, fragile, and involatile molecules." *Science* **218** (1982): 247-254.
5. Busch K. L., Unger S. E., Vincze A., Cooks R. G. et Keough T. "Desorption ionization mass spectrometry: sample preparation for SIMS, laser desorption and field desorption." *J. Amer. Chem. Soc.* **104** (1982): 1507-1511.
6. Aberth W., Straub K. M. et Burlingame A. L. "Secondary ion mass spectrometry with cesium ion primary beam and liquid target matrix for analysis of bioorganic compounds." *Anal. Chem.* **54** (1982): 2029-2034.
7. Fenselau C., Yergey J. et Heller D. "Particle induced desorption and the analysis of large molecules." *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **53** (1983): 5-20.
8. Cochran R. L. "FAB/MS and its industrial applications." *Appl. Spec. Rev.* **22** (1986): 137-187.

9. Cook K. D., Todd P. J. et Friar D. H. "Physical properties of matrices used for FAB." *Biomed. Env. Mass Spectrom.* **18** (1989): 492-497.
10. DePauw E., Agnello A. et Derwa F. "Liquid matrices for liquid secondary ion mass spectrometry-fast atom bombardment: An update." *Mass Spectrom. Rev.* **10** (1991): 283-301.
11. Gower, J.L. "Matrix compounds for fast atom bombardment mass spectrometry." *Biomed. Mass Spectrom.* **5** (1985): 191-196.
12. Aubagnac, J.L., Claramunt R.M. et Sanz D. "Reduction phenomenon in the FAB mass spectra of N-aminoazoles with a glycerol matrix." *Org. Mass Spectrom.* **25** (1990): 293-295.
13. Burinsky D. J., Dilliplane R. L., DiDonato G. C. et Busch K. L. "Reduction of methylene blue during the ionization process." *Org. Mass Spectrom.* **23** (1988): 231-235.
14. Cerny R. L. et Gross M. L. "Abundances of molecular ion species desorbed by fast atom bombardment: observation of  $(M+2H)^+$  and  $(M+3H)^+$ ." *Anal. Chem.* **57** (1985): 1160-1163.
15. Nedderman A. N. R. et Williams D. H. "Utilization of the chemical properties of liquid matrices to investigate reductive processes in FAB mass spectra." *Biol. Mass Spectrom.* **20** (1991): 289-291.
16. Kyranos J. N., duSorbier B. M., Wronka J. et Vouros P. "Reduction processes in the FAB mass spectrometry of sulfonyl esters of diazonaphthalenones." *Org. Mass Spectrom.* **23** (1988): 443-452.
17. Pelzer G., De Pauw E., Dung D. V. et Marien J. "Oxidation-reduction processes occurring in SIMS and FAB of glycerol solutions." *J. Phys. Chem.* **88** (1984): 5065-5068.

18. Vékey K. "Interference effects caused by oxidation and reduction processes in FABMS." *Int. J. Mass Spec. Ion Proc.* **97** (1990): 265-282.
19. Aubagnac J. L. et Gosselin G. "A new reduction process in FABMS: transformation of an azido group into an amino group." *Rap. Comm. Mass Spec.* **7** (1993): 704-706.
20. Aubagnac J-L, Bernardi E. et Lazaro R. "Reduction phenomenon in the FAB mass spectra of cyclotetrapeptide analogues of chlamydocin." *Org. Mass Spectrom.* **28** (1993): 57-60.
21. Aubagnac J. L., Gilles I., Claramount R. M., Escolastico C., Sanz D. et Elguero J. "Reduction of aromatic fluorine compounds in FABMS." *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **9** (1995): 156-159.
22. Aubagnac J. L., Doulut S., Rodriguez M. et Martinez J. "Dehydroxylation reaction induced by the matrix in the FAB mass spectra of a peptide." *Org, Mass Spec.* **27** (1002): 645-647.
23. Aubagnac J. L., Astier R. et Gosselin G. "A new reduction process in FABMS: substitution of a nitro group by a hydrogen." *Rap. Comm. Mass Spec.* **7** (1993): 41-42.
24. Sethi S. K. "Dehalogenation reactions in FABMS." *Anal. Chem.* **56** (1984): 1975-1977.
25. Takayama M. "Formation of deprotonated molecules (M-H)<sup>-</sup> of α-tocopherol under FAB conditions." *Rap. Comm. Mass Spec.* **8** (1994): 309-312.
26. Main D. E., Ens W., Westmore J. B. et Wong C. "Redox reactions occurring during secondary ion mass spectrometry of some

heteroanthracycline antitumor antibiotic precursors." *Biomed. Env. Mass Spec.* **14** (1987): 91-96.

27. Baldwin M. A., Williams K. J., Toth I. et Gibbons A. "Hybride abstraction in FAB." *Org. Mass Spectrom.* **23** (1988): 697-699.
28. Byrdy F. A. et Busch K. L. "Bombardment-induced polymerization of nitrobenzyl alcohol in FABMS." *Spectros. Letters* **23** (1992): 789-798.
29. Aubagnac J-L, Gilles I., Lazaro R., Claramount R-M, Gosselin G. et Martinez J. "Reduction Phenomenon in Frit FABMS." *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **9** (1995): 509-511.
30. Peltier J. M., Smith R. W. et MacLean D. B. "Reduction of azides under conditions of desorption-chemical ionization or FAB mass spectrometry." *Carbohydrate Res.* **207** (1990): 1-10.
31. Chan K. W. S. et Cook K. D. "Chemical reactivity of glycerol as a mass spectrometric matrix." *Anal. Chem.* **55** (1983): 1422-1424.
32. Detter L. D., Hand O. W., Cooks R. G. et Walton R. A. "Interfacial chemical reactions accompanying desorption ionization mass spectrometry." *Mass Spectrom. Rev.* **7** (1988): 465-502.
33. Bertrand M. J., Visentini J., Paul G. J. C. et Zidarov D. "An approach to the quantitative study of reduction processes occurring in FABMS/LSIMS." *Rap. Commun. Mass Spectrom.* **6** (1992): 485-491.
34. Visentini J., Zidarov D., Allard M. et Bertrand M. J. "Evaluation of the true effect of experimental parameters on the reduction/oxidation processes observed in FAB/LSIMS." *J. Amer. Soc. Mass Spectrom.* **4** (1993): 482-492.

35. Kazakoff C. W., Rye R. T. B. et Tee O. S. "Reduction processes in FAB mass spectra of pyridinium salts. The effect of reduction potential and concentration." *Can. J. Chem.* **67** (1989): 183-186.
36. Murthy S. V. et Miller J. M. "Suppression effects on a reduction process in FABMS." *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **7** (1993): 874-881.
37. Gale J. P., Bentz B. L., Chait B. T., Field F. H. et Cotter R. J. "Reduction in liquid secondary ion mass spectrometry. Comparison of the fission fragment and liquid secondary ion mass spectra of organic dyestuffs." *Anal. Chem.* **58** (1986): 1070-1076.
38. Kazakoff C. W. et Rye R. T. R. "Reduction processes in FAB mass spectrometry: methylene blue in glycerol-thioglycerol and glycerol-nitrobenzyl alcohol matrices." *Org. Mass Spectrom.* **26** (1991): 154-156.
39. Kyranos J. N. et Vouros P. "Reduction processes in FAB mass spectrometry: interdependence of analyte and matrix redox potentials." *Biomed. and Environ. Mass Spectrom.* **19** (1990): 628-634.
40. Reynolds J. D. et Cook K. D. "Improving FAB mass spectra: the influence of some controllable parameters on spectral quality." *J. Amer. Soc. Mass Spectrom.* **1** (1990): 149-157.
41. Visentini J. "A comprehensive study of the factors affecting the overall extent of reduction observed in the FAB/LSIMS spectra of peptides." *Thèse de doctorat, Université de Montréal* (1993)
42. Visentini J., Allard M., Zidarov D. et Bertrand M. J. "Reduction of peptides in FAB/LSIMS: Structure of the analyte and sample distribution." *Proceedings of the 42nd ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (Chicago, ILL., 1994): 195.

43. Visentini J., Allard M., Zidarov D. et Bertrand M. J. "The effects of analyte and matrix properties on the true reduction-oxidation extents observed in FAB/LSIMS analysis of peptides." *Proceedings of the 41st ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (San Francisco, CA., 1993): 219a-219b.
44. Allard M. et Bertrand M. J. "Beam-induced redox processes for the methylene-blue/thioglycerol system in LSIMS." *Proceedings of the 44th ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (Portland, OR., 1996): 804.
45. Allard M. et Bertrand M. J. "Further insights into beam-induced redox processes of dyes in LSIMS." *Proceedings of the 45th ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (Palm Springs, CA., 1997): 94.
46. Allard M., Visentini J. et Bertrand M. J. "Methylene blue: a comprehensive study of the variation of the peak intensities in the molecular ion region with experimental conditions in LSIMS/FAB." *Proceedings of the 40th ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (Washington, D.C., 1992): 1409-1410.
47. Visentini J., Allard M., Zidarov D. et Bertrand M. J. "An approach to the evaluation of the true effect of experimental parameters on the oxidation/reduction observed in FAB/LSIMS." *Proceedings of the 40th ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (Washington, D.C., 1992): 1411-1412.
48. Murthy V. S. et Miller J. M. "Sustained suppression of reduction processes in FAB mass spectrometry." *Can. J. Appl. Spec.* **39** (1994): 63-67.

49. Bentz B. L. et Gale J. P. "Characterization of organic dyes aided by hydrogen-deuterium exchange in Liquid secondary ion mass spectrometry (LSIMS)." *Int. J. Mass Spec. Ion Proc.* **78** (1987): 115-130.
50. Santana-Marques M. G. O. et Ferrer-Correia A. J. V. "FAB induced reduction of aromatic oximes." *Anal. Chem.* **61** (1989): 1442-1447.
51. Kunkel G.J., Busch K. L., Dnphy R., Burinsky D. J., Barak R., Bel P., Amitai G. et A. Vincze. "Liquid secondary ion mass spectra and FAB mass spectra of diquatery pyridinium oxime salts." *J. Mass Spectrom.* **30** (1995): 282-289.
52. Lowe D. R. et Snook R. D. "Photobleaching of methylene blue in continuous wave thermal lens spectrometry." *Analyst* **118** (1993): 613-616.
53. Danziger R. M., Kedma B. H. et Weisa K. "The laser photolysis of methylene blue." *J. Phys. Chem* **71** (1967): 2633-2640.
54. Benninghoven A. in *ion formation of organic solids, Vol. 25*, Springer-Verlag, Berlin (1983).
55. Wong S. S. et Rollgen F. W. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res.* **b14** (1986): 436-.
56. Vestal M. L. in *ion formation of organic solids, Vol. 25*, Springer-Verlag, Berlin (1983), p.246.
57. DePauw E. "Ion promotion in FABMS by charge transfer complexation." *Anal. Chem.* **55** (1983): 2195-2196.
58. Todd P. J. "Solution chemistry and secondary ion emission from amine-glycerol solutions." *J. Amer. Soc. Mass Spec.* **2** (1991): 33-44.

59. Paul G.J.C., Bourg S. et Bertrand M. J. "FAB of the cyclic acetals:evidence indicating the predominant involvement of condensed-phase processes in ionization." *J.Amer. Soc. Mass Spectrom.* **4** (1993): 493-503.
60. Paul G.J.C., Bourg S. et Bertrand M.J. "Are gas-phase processes really responsible for the ionization of cyclic acetals by FAB?" *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **6** (1992): 85-88.
61. Todd P. J. "Secondary ion emission from glycerol under continuous and pulsed primary ion current." *Org. Mass Spectrom.* **23** (1988): 419-424.
62. Sunner J. "Ionization in Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry (LSIMS)." *Org. Mass Spectrom.* **28** (1993): 805-823.
63. Schroeder E., Munster H. et Budzikiewicz H. "Ionization by FAB- a chemical (matrix) process in the gas phase?" *Org. Mass Spectrom.* **21** (1986): 707-715.
64. Sunner J. A., Katalunga R. et Kebarle P. "FABMS and gas-phase basicities." *Anal. Chem.* **58** (1986): 1312-1316.
65. Sunner J. A., Morales A., et Kebarle P. "Dominance of gas-phase basicities over solution basicities in the competition for protons in FAB'S." *Anal. Chem.* **59** (1987): 1378-1383.
66. Cooks R. G. et Busch K. L. "Matrix effects, internal energies and ms/ms spectra of molecular ions sputtered from surfaces." *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **53** (1983): 111-124.
67. Magee C. W. "Sputtering of organic molecules." *Int. J. Mass Spec. Ion Phys.* **49** (1983): 211-221.

68. Martin S. A., Costello C. E. et Bieman K. "Optimization of experimental procedures for FABMS." *Anal. Chem.* **54** (1982): 2362-2368.
69. Katz R. N., Chaudhary T. et Field F. H. "Particle bombardment (keV) mass spectra of ethylene glycol, glycerol and water at sub-ambient temperatures." *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **78** (1987): 85-97.
70. Ligon W. V. et Dorn S. B. "Quantitative studies of the effect of added acid and base on the sputtering of organic amines and acids from dilute glycerol solution." *J. Amer. Chem. Soc.* **110** (1988): 6684-6688.
71. Shiea J. et Sunner J. "The acid effect in FAB." *Org. Mass Spectrom.* **26** (1991): 38-44.
72. Ligon W. V. et Dorn S. B. "The use of surfactants to modify molar response factors in the secondary ion mass spectrometry of liquid surfaces." *Int. J. Mass Spec. Ion Proc.* **61** (1984): 113-122.
73. Ligon W. V. et Dorn S. B. "Understanding the glycerol surface as it relates to the secondary ion mass spectrometry experiment. A review." *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **78** (1986): 99-113.
74. Malorni A., Marino G. et Milone A. "Effect of matrix modification by strong mineral acids on the positive FAB mass spectra of peptides." *Biomed. Env. Mass Spectrom.* **13** (1986): 477-482.
75. Musselman B. D., Watson J. T. et Chang C. K. "Direct evidence for preformed ions of porphyrins in the solvent matrix for FAB mass spectrometry." *Org. Mass Spectrom.* **21** (1986): 215-219.
76. Caprioli R. M. "FABMS for determination of dissociation constants of weak acids in solution." *Anal. Chem.* **55** (1983): 2387-2391.

77. Caprioli R. M. in *Desorption mass spectrometry: Are FAB and SIMS the same?*, ACS symposium series, ACS (1985).
78. Connolly M. J. et Orth R. G. "Relationship between solution equilibria and secondary intensities in FAB mass spectrometry." *Anal. Chem.* **59** (1987): 903-908.
79. Sunner J., Morales A. et Kebarle P. "Kinetic modeling of FAB spectra of glycerol-diethanolamine mixtures." *Anal. Chem.* **60**, no. 98-104 (1988):
80. Yang Y. W., Sokolowski E. A., Fales H. M. et Pannell K. L. "Californium-252 plasma desorption MS of skin lipids (+ and - ions formed by attachment processes)." *Biomed. Env. Mass Spectrom.* **13** (1986): 489-492.
81. Keough T. "Cationization of organic molecules using FABMS." *Anal. Chem.* **57** (1985): 2027-2034.
82. Chiarelli M. P. et Gross M. L. "Mechanism of cationization of sucrose by sodium in laser desorption: a study by fourier transform MS." *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **78** (1987): 37-52.
83. Bursey M. M., Marbury G. D. et Hass J. R. "Fractionation of alkali metal cations in cationization of phtalic acid. A FAB study." *Biomed. Mass Spectrom.* **11** (1984): 522-527.
84. Grade H. et Cooks R. G. "Secondary ion mass spectrometry. Cationization of organic molecules with metals." *J. Amer. Chem. Soc.* **100** (1978): 5615-5621.
85. Vékey K. et Zerilli L. F. "Chemical reactions in FABMS." *Org. Mass Spectrom.* **26** (1991): 939-944.

86. Edom R. W., McKay G., Hubbard J. W. et Midha K. K. "Dehalogenation reactions in the FABMS of phenothiazine-related drugs." *Biol. Mass Spec.* **20** (1991): 585-592.
87. Théberge R., Paul G. J. C. et Bertrand M. J. "Systematic study of the effects of experimental parameters on the beam-induced dehalogenation of chlorpromazine in LSIMS." *Org. Mass Spectrom.* **29** (1994): 18-25.
88. Théberge R. et Bertrand M. J. "Beam-induced dehalogenation in LSIMS: effect of halogen type and matrix chemistry." *J. Mass Spec.* **30** (1995): 163-171.
89. Miller J. M. "FABMS of organometallic, coordination and related compounds." *Mass Spectrom. Rev.* **9** (1990): 319-347.
90. Miller J. M. "FABMS and related techniques." *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.* **28** (1984): 1-27.
91. Lehmann W. D., Kessler M. et König W. A. "Investigations on basic aspects of FABMS: matrix effects, sample effects, sensitivity and quantification." *Biomed. Mass Spectrom.* **11** (1984): 217-222.
92. Baldwin M. A. et Welham K. J. "[M+18]<sup>+</sup> peaks in FABMS using a thioglycerol matrix." *Org. Mass Spectrom.* **21** (1986): 235-237.
93. Williams D. H., Findeis F. A., Naylor S. et Gibson B. W. "Aspects of the production of FAB and SIMS mass spectra." *J. Amer. Chem. Soc.* **109** (1987): 1980-1986.
94. Rosen R. T., Hartman T. G., Rosen J. D. et Ho C. T. "Fab mass spectra of low molecular weight alcohols and other compounds (Evidence of a Cl

- process in the gas phase)." *Rap. Comm. Mass Spectrom.* **2** (1988): 21-23.
95. Takayama M., Fukai T., Nomura K. et Nojima K. "Direct evidence of both EI and CI-like fragmentation in FAB mass spectra of prenylated flavonoids confirmed by tandem mass spectrometry." *Rap. Comm. Mass Spectrom.* **3**, no. 4-6 (1989): ion.mec.
96. Curcuroto O., Traldi P., Moneti G., Corda L. et Podda G. "Evidence that gas-phase ion-molecule reactions are responsible for the behaviour of crown ethers under FAB conditions." *Org. Mass Spectrom.* **26** (1991): 713-717.
97. Zha Q., Bailey M. D. et Bertrand M. J. "The observation of predominant [M-H]<sup>+</sup> ions in FABMS of derivatized sugars." *Can. J. Appl. Spectros.* **35** (1990): 141-148.
98. Dube G. "The behaviour of aromatic hydrocarbons under FAB." *Org. Mass Spectrom.* **19** (1984): 242-243.
99. Clayton E. et Wakefield J. C. "FABMS: mechanism of ionisation." *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1984): 969-970.
100. Wirth K. P., Junker E., Rollgen F. W., Fonrobert P. et Przybylski M. "Reduction of azo-group-containing peptides in FAB mass spectrometry." *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* (1987): 1387-1388.
101. Florencio M. H. et Heerma W. "Behaviour of methyl red under FAB conditions." *Org. Mass Spectrom.* **28** (1993): 657-664.
102. Agnello A. et De Pauw E. "Inhibition of the reduction process occurring in LSIMS/FAB." *Org. Mass Spectrom.* **26** (1991): 175-177.

103. Brown S. M. et Busch K. L. "Reversible reductions of oxazine dyes induced by primary particle bombardment in LSIMS." *Rap. Comm. Mass. Spec.* **2** (1988): 256-259.
104. Naylor S., Hunter C. A., Cowan J. A., Lamb J. H. et Sanders K. M. "Metalloporphyrins in FAB mass spectrometry: implications for processes occurring in the liquid matrix." *J. Amer. Chem. Soc.* **112** (1990): 6507-6514.
105. Musselman B. D. et Watson J. T. "Observation of solvent effects on abundance of polyhydrogen adducts  $(M+nH)^+$  in FAB mass spectrometry." *Biomed. Env. Mass Spectrom.* **14** (1987): 247-248.
106. Visentini J., Thibault P. et Bertrand M. J. "Matrix reactions and their effects on the isotopic peak ratios of peptides measured by FABMS." *Proceedings of the 37th ASMS Conference on Mass Spectrometry and allied topics* (février 1989): 887-888.
107. Rao P. S. et Hayon E. "Reduction of dyes by free radicals in solution. Correlation between reaction rate constants and redox potentials." *J. Phys. Chem.* **77** (1973): 2753-2756.
108. Buxton C. V., Greenstock C. V., Helman W. P. et Ross A. B. "Critical review of rate constants for reaction of hydrated electron, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ( $\cdot OH/\cdot O^-$ ) in aqueous solutions." *J. Phys. Chem. Ref. Data* **17** (1988): 513.
109. Meili J. et Seibl J. "A new versatile matrix for FAB analysis." *Org. Mass Spectrom.* **19** (1984): 581-582.
110. Unger S. et Cooper R. "Structure of the quinone antibiotic EM5519 and the behavior of quinones in FABMS." *J. Antibiotics* **38** (1985): 24-30.

111. Scheifers S. M., Verma S. et Cooks R. G. "Characterization of organic dyes by secondary ion mass spectrometry." *Anal. Chem.* **55** (1983): 2260-2266.
112. Kazakoff C. W., Bird P. H. et Rye R. T. B. "Production of X-rays in a FAB source." *Org. Mass Spectrom.* **24** (1989): 703.
113. Musser S. M. et Kelley J. A. "Mechanism for dehalogenation reactions in FAB mass spectrometry." *Org. Mass Spectrom.* **28** (1993): 672-678.
114. Théberge R. et Bertrand M. J. "Effect of analyte hydrophobicity on beam-induced dehalogenation in LSIMS." *Proceedings of the 43rd ASMS conference on mass spectrometry and allied topics* (1995): 1064-1065.
115. Fujita Y., Matsuo T., Sakurai T. et Matsuda H. "Mass distribution of peptide molecular ions in the secondary ionization process." *Int. J. Mass Spec. Ion Proc.* **63** (1985): 231-240.
116. Laramée J. A., Arbogast B. et Deinzer M. L. "Evidence for radical anion formation during LSIMS analysis of oligonucleotides and synthetic oligomeric analogues: a deconvolution algorithm for molecular ion region clusters." *Anal. Chem.* **61** (1989): 2154-2160.
117. McEwan C. N., Layton S. F. et Taylor S. K. "Field desorption and electron impact mass spectra of ionic dyes." *Anal. Chem.* **49** (1977): 922-926.
118. Visentini J., Gauthier J. et Bertrand M. J. "Effect of trifluoroacetic acid on the reduction of disulfide bridges in peptides analyzed by FABMS." *Rap. Comm. Mass Spec.* **3** (1989): 390-395.

119. Visentini J., Nguyen P. M. et Bertrand M. J. "The use of 4-hydroxybenzenesulfonic acid as a reduction-inhibiting matrix in LSIMS." *Rap. Comm. Mass Spec.* **5** (1991): 586-590.
120. Belletête M., Di Cèsare N., Leclerc M. et Durocher G. "Semiempirical determination of torsional potentials and electronic properties of bithiophene, terthiophene and 3',4'-dihexyl-2,2':5',2"-terthiophene in their ground and first excited singlet and triplet electronic states." *J. Mol. Struct. (Theochem)* **391** (1997): 85-99.
121. Keough T. "Matrix effects on the formation of beam-induced adduct ions during FAB of n-alkylpyridinium salts." *Int. J. Mass Spec. Ion Proc.* **86** (1988): 155-168.
122. Huyser E. S. et Tang H. "Kinetic analysis of the methylene blue oxidations of thiols." *ACS Symp. Ser.* **69** (1978): 258-274.
123. Kebarle P. et Chowdhury S. "Electron affinities and electron-transfer reactions." *Chem. Rev.* **87** (1987): 513-534.
124. Miller J. M., Basalanmugam K., Nye J., Deacon G. B. et Thomas N. C. "Observation of doubly charged ions in FABMS: Ruthenium (II) complexes in a nitrobenzyl alcohol matrix." *Inorg. Chem.* **26** (1987): 560-562.
125. Kriger S. M., Cook K. D., Short R. T. et Todd P. J. "Secondary ion emission from solutions: time dependance and surface phenomena." *Anal. Chem.* **64** (1992): 3052-3058.
126. Chien Y., et Shiea J. "Selective enhancement of ion signal of charged surfactant in FAB mass spectrometry." *J. Mass Spectrom.* **30** (1995): 1435-1440.

127. Ligon W. V. "Evaluating the composition of liquid surfaces using mass spectrometry." *Biol. Mass Spectrom.* (1989): 63-75.
128. Lacey M. P. et Keough T. "The effects of gas-phase basicity and surface activity on the formation of FAB mass spectra." *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **3** (1989): 46-50.
129. Ligon W. V. "The secondary ion mass spectrum of glycerol-d5; evidence for radical cation intermediates." *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **52** (1983): 189-.
130. *Handbook of chemistry and physics, 77th edition.* 1997, p. F-30.
131. Swallow A. J. *Radiation chemistry of organic compounds.* 1960.
132. Todd P. J. "Temporal behavior of secondary ion emission from analyte/liquid matrix samples." *Anal. Chem.* **58** (1986): 895-899.
133. Junker E., Wirth K. P. et Rollgen F.W. "Effects of matrix evaporation during continuous sputtering in FABMS." *Int. J. Mass Spectro. Ion Proc.* **122** (1992): 2-23.
134. Vékey K., Colombo L., Zerilli L. F. et Székely G. "Kinetics of matrix/sample interactions in FAB." *Rap. Comm. Mass Spectrom.* **5** (1991): 1-4.
135. Wong S. S., Rollgen F. W., Manz I. et Przybylski. "Evidence for a surface self-cleaning sputtering mechanism in FABMS." *Biom. Mass Spectrom.* **12** (1985): 43-46.
136. Wong S. S. et Rollgen F. W. "Sputtering of large molecular ions by low energy particle impact." *Nucl. Inst. and Methods in Phys. Res.* **b14** (1986): 436-447.

137. Resch P., Field R. J., Schneider F. W. et Burger M. "Reduction of methylene blue by sulfide ion in the presence and absence of oxygen: Simulation of the methylene blue-O<sub>2</sub>-HS- CSTR Oscillations." *J. Phys. Chem.* **93** (1989): 8181-8186.
138. Théberge R. "An investigation of the beam-induced dehalogenation process in liquid secondary ion mass spectrometry." *Thèse de doctorat, Université de Montréal* (1996):
139. Aubagnac J. L., Claramunt R. M. et Elguero J. "Spectres de masse FAB en mode positif de cations heterocycliques doublement chargés apparentes au dibenzo(a,e)cyclooctane." *Bull. Soc. Chim. Belg.* **100** (1991): 459-466.
140. Field F. H. "FAB study of glycerol: mass spectra and radiation chemistry." *J. Phys. Chem.* **86** (1982): 5115-5123.
141. Spinks J. W. T. et Woods R.J. *An introduction to radiation chemistry*, John Wiley&Sons, New York, (1908).
142. Koizumi M., Obata H. et Hayashi S. "Studies of the photoreduction of thiazine dyes in aqueous solutions." *Bull. of Chem. Soc. Jpn* **37** (1964): 109-117.
143. Kato S., Morita M. et Koizumi M. "Studies of the transient intermediates in the photoreduction of methylene blue." *Bull. of Chem. Soc. Jpn* **37** (1964): 117-125.
144. Hayon E., Scholes G. et Weiss J. "Chemical action of ionising radiations in solution. Part XIX. Some aspects of the reduction of methylene-blue by X-rays in aqueous systems." *J. Chem. Soc.* (1957): 301-311.

145. Koizumi M. et Obata H. "The formation of stable semiquinone of methylene blue by the irradiation of visible light and gamma-rays." *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **31** (1958): 823-827.
146. Matsumoto S. "Flash photolysis of methylene blue. I. Reversible photolysis in the absence of a reducing agent and in the presence of certain kinds of reducing agents." *Bull. of Chem. Soc. Jpn* **37** (1964): 491-498.
147. Matsumoto S. "Flash photolysis of methylene blue. II. Photolysis in an aqueous solvent in the presence of n-phenylglycines and photolysis in organic solvents." *Bull. of Chem. Soc. Jpn* **37** (1964): 499-503.
148. Collinson E. et Swallow A.J. "The radiation chemistry of organic substances." *Chem. Rev.* **56** (1956): 471-568.
149. Day M. J. et Stein G. "The action of ionizing radiations on aqueous solutions of methylene blue." *Rad. Res.* **6** (1957): 666-679.
150. Stein G. "Réductions par irradiation de solutions aqueuses." *J. Chim. Phys.* **52** (1955): 634-638.
151. Collinson E. *Disc. Faraday Soc.* **12** (1952): 285-286.
152. Grossweiner L. I. "Radiation chemistry of dyes." *Radiation Res. Rev.* **2** (1970): 345-379.
153. Bartmess J. E., Boggess B.C., Thomas D. A. et Cook K.D. "2-Methylglycerol as a FAB matrix." *Proceedings of the 38th ASMS conference on mass spectrometry and allied topics.* (mars 1968): 184.

- 154 Landoldt-Bornstein "Numerical data and functional relationships in science and technologies", Vol. 7, *Springer-Verlag*, , New York (1971).
- 155 Théberge R., Bertrand, M.J. "An investigation of the relationship between analyte surface concentration and the extent of beam-induced dehalogenation in Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry", " *Rap. Comm. Mass Spectrom.* **12** (1998): 1-7.
- 156 Harris, D.C. in *Quantitative Chemical Analysis*, WH Freeman & Company, New York (1995), Chap. 18.
- 157 Harrison, A.G. in *Chemical Ionization Mass Spectrometry*, CRC Press, Boca Raton (1983).

## **REMERCIEMENTS**

L'accomplissement d'un travail d'envergure tel une thèse de doctorat suppose nécessairement l'implication de gens qui, quoique dans l'ombre, ont exercé un rôle essentiel. Je profiterai donc de cette tribune pour exprimer aux personnes suivantes ma reconnaissance:

À Dr. Michel J. Bertrand, mon directeur de thèse, qui a été tout au long de ces années une source de conseils judicieux et ce, à plusieurs points de vue. Il a toute ma reconnaissance pour avoir développé ma carrière scientifique par le biais de conférences et pour m'avoir permis de joindre son groupe de recherche, expérience qui constitue sans doute l'une des plus marquantes de ma vie.

À Micheal J. Evans pour son support technique et ses connaissances pratiques, mais surtout pour son flegme typiquement anglais qui s'avéra une aide précieuse lors de moments de crise.

À Denis Faubert, pour son amitié, sa compréhension et ses discussions sur le genre humain, qui ont rendu les longues heures plus agréables.

À tous mes collègues, présents et passés du Centre Régional de Spectrométrie de Masse, qui ont contribué à façonner mon intérêt pour la science, tout en m'apportant support moral et bonne humeur.

Finalement, sur une note plus personnelle, je tiens à remercier mes parents, mon frère et mes amis, pour leur confiance en ma réussite et leur soutien moral essentiel. Un remerciement à Etienne Couture, pour son sens de l'humour unique qui a réussi à éclairer les jours les plus gris. Également un merci tout particulier à Josie Visentini, une collègue mais surtout une copine dont l'amitié s'est révélée être riche et unique. Les nombreuses heures de délire ensemble sont des moments qui m'ont permis pendant ces années, de garder une perspective saine sur la situation.